

T.C.  
GAZIANTEP ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MİGREN HASTALARINDA nNOS GEN POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI

Ecz. Ayşe ÖZEL

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

GAZIANTEP-2007

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
TABLolar LİSTESİ.....	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	v
SEMBOLLER LİSTESİ.....	vi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Migren.....	3
2.1.1. Baş ağrısının tanımı ve Tarihçesi.....	3
2.1.2. Baş ağrısının Sınıflandırılması.....	4
2.1.3. Migrenin Tanımı ve sınıflandırılması.....	5
2.1.4. Migrenin Etiyolojisi ve Patogenezi.....	8
2.1.5. Migrenin Epidemiyolojisi .....	11
2.1.6. Migrenin Kliniği.....	11
2.1.7. Migrenin Genetiği.....	17
2.2. Nitrik oksid.....	17
2.3. Nitrik Oksid Sentaz Enzimleri ve Özellikleri.....	19
2.4. Nitrik Oksid ve Migren İlişkisi.....	21
2.5. Polimorfizmin Tarifi ve Tıpta Kullanım Alanları.....	23
2.6. Genetik Polimorfizm ve Çeşitleri.....	24
2.7. Migrenin Polimorfizmleri.....	27
2.8. Nöronal Nitrik Oksid Sentazın Gen Polimorfizmleri.....	28
2.9. Polimeraz Zincir Reaksiyonu Tekniği (PCR).....	29
2.9.1. PCR Reaksiyonu İçeriği.....	29
2.9.2. PCR Döngüleri ve Süreleri.....	31
2.9.3. PCR'ın Kullanım Alanları.....	32

2.10. Elektroforez Tekniği.....	33
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	36
3.1. Hasta ve Kontrol Grubunun Toplanması.....	36
3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler.....	36
3.2.1. Alet ve Cihazlar.....	36
3.2.2. Kimyasal Maddeler.....	37
3.2.3. Çözeltiler.....	38
3.3. DNA İzolasyonu.....	40
3.3.1. DNA İzolasyonun Yapılışı.....	40
3.4. Moleküler Analiz.....	41
3.5. Kullanılan İstatiksel Yöntemler.....	42
4. BULGULAR.....	44
5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR.....	48
6. KAYNAKLAR.....	53
7. ÖZGEÇMİŞ.....	72

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### MİGREN HASTALARINDA nNOS GEN POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI

Ecz. Ayşe ÖZEL

Gaziantep Üniversitesi-Sağlık Bilimleri Enstitüsü,

Farmakoloji Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Belgin ALAŞEHİRLİ

Ekim 2007- 72 Sayfa

Migren, nörolojik ve non-nörolojik belirtilerle karakterize, ataklarla seyreden bir baş ağrısı sendromudur. Migrende fizyopatoloji karmaşıktır. Bugün için genetik ve çevresel faktörler, vasküler değişiklikler, hipotalamik disfonksiyon, nörotransmitterler, trigeminovasküler anormallikler ve nörojenik inflamasyonun ortak rolü olduğu kabul edilmektedir. Migren etiyolojisinde genetik yatkınlığın önemi uzun zamandan beri bilinmektedir. Ancak bu genetik aktarımın şekli halen tam olarak ortaya konulamamıştır. Bununla beraber birden fazla genin rol aldığı düşünülmektedir. Migrende kilit bir molekül olduğu düşünülen nitrik oksidin (NO) vazodilatasyon, nörotransmisyon, nörojenik inflamasyon ve nosisepsiyon gibi biyolojik aktivitelerde rolü bulunmaktadır. GTN, histamin, nitrogliserin gibi NO donörü olan ilaçların migren atağını tetiklediği bilinmektedir. NO ve migren arasında ilişki olduğunu gösteren çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmada, nNOS geni C276T polimorfizmi ile migren arasında ilişki olup olmadığı araştırıldı. 120 migrenli hasta ve 185 sağlıklı bireyden alınan tam kan örneklerinden DNA izolasyonunu takiben Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ve Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) ile elde edilen genotipler sağlıklı gönüllülerden elde edilen örneklerle karşılaştırıldı. Elde edilen veriler, istatistiksel olarak değerlendirildiğinde; nNOS geni C276T polimorfizmi ile migren hastalığı arasında anlamlı bir ilişki olmadığı belirlendi.

**Anahtar Kelimeler:** nNOS, migren, polimorfizm

## ABSTRACT

M.S. Thesis

nNOS GENE POLYMORPHISM IN MIGRAINE PATIENTS

Ecz. Ayşe ÖZEL

University of Gaziantep - Graduate School of Health Sciences

Department of Pharmacology

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Belgin ALAŞEHİRLİ

October 2007-72 Pages

Migraine is a syndrome that characterized by neurological and non-neurological symptoms. Migraine developed with a headache by attacks. Physiopathology of migraine is complicated. Today, genetic and environmental factors, vascular modifications, hypothalamus dysfunctions, neurotransmitters, trigeminovascular abnormalities and neurogenic inflammations are considered to have an active part in migraine. Importance of genetic predisposition of etiopathogenesis of migraine has been known for a long time. The pattern of inheritance has not been identified completely yet but multigenetic factors may play role in inheritance. Nitric oxide (NO) plays a major role in vasodilation, neurotransmission, neurogenic inflammation, nociception, etc. has been considered to be the key molecule of migraine. Glyceryl trinitrat, histamine and nitroglycerin NO donor, have been known to trigger migraine attacks. There are several studies that shown relations between NO and migraine. In this study, we investigated that if there is any relation between C276T polymorphism of nNOS gene and migraine. Following DNA isolation from blood samples were taken from 120 migraine patients and 185 healthy persons the genotypes (compared with samples that obtained from healthy persons), by Polymerase Chain Reaction (PCR) and Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP). Statistical evaluation of the data showed that there is no any marked relation between the C276T polymorphism of the nNOS gene and migraine.

**Key Words:** nNOS, migraine, polymorphism.

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana bilgisiyle, engin sabrı ve hoşgörüsüyle her zaman doğruyu işaret ederek yol gösteren, önüme hedefler koyarak beni daha da çok çalışmaya teşvik eden, gösterdiği titizlik, özveri ve bilimsel katkılardan dolayı değerli danışman hocam,

*Yrd. Doç. Dr. Belgin ALAŞEHİRLİ'ye*

Farmakoloji eğitimime başlamamda büyük katkısı olan, örnek aldığım ve tanımaktan onur duyduğum Gaziantep Üniversitesi Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı  
*Sayın Prof. Dr. A. Tuncay DEMİRYÜREK'e*

Tezimde yer alan hasta gruplarının toplanması sırasındaki yardımlarından dolayı Gaziantep Üniversitesi Nöroloji Anabilim Dalı Başkanı  
*Sayın Prof. Dr. Münife NEYAL'e*

Yüksek lisans eğitimim boyunca yaptığı bilimsel ve akademik katkılardan dolayı Anabilim dalımızın hocalarından  
*Sayın Doç. Dr. Mehtap ÖZKUR'a*

Gösterdiği yardımlardan dolayı *Arş. Gör. Dr. Necla BENLİER'e*

Eczanemdeki yardımcım *Mustafa DEĞER'e*

Beni sevgiyle büyüten, verdiğim her kararda arkamda olan, bana güç veren  
*Anneme, Babama ve*  
sevgilerini daima yüreğimde hissettiğim  
*Kardeşlerime*

*Teşekkürü bir borç bilirim.*

## TABLolar LİSTESİ

<b>Tablo 1.</b> Uluslar Arası Baş Ağrısı Derneğinin Baş Ağrıları Sınıflandırması.....	5
<b>Tablo 2.</b> Migren Sınıflandırması.....	6
<b>Tablo 3.</b> Auralı ve Aurasız Migren Tanı Kriterleri.....	7
<b>Tablo 4.</b> Migren ile gerilim tipi baş ağrısı arasındaki ayırt edici genel özellikler..	10
<b>Tablo 5.</b> Migren Ataklarının Ortaya Çıkışını Kolaylaştıran Etkenler.....	13
<b>Tablo 6.</b> Migren Atağının Dönemleri.....	13
<b>Tablo 7.</b> Migrende Görülen Prodrom Dönemi Semptomları.....	14
<b>Tablo 8.</b> Migren Ağrısı Sırasında Görülen Belirtiler.....	16
<b>Tablo 9.</b> Migren Ağrısını Azaltan Faktörler.....	16
<b>Tablo 10.</b> NOS İzofomları.....	20
<b>Tablo 11.</b> Migrenin Polimorfizmleri.....	27
<b>Tablo 12.</b> nNOS Gen Polimorfizmleri ve İlişkisi Olduğu Düşünülen Hastalıklar..	28
<b>Tablo 13.</b> Migrenlilerin ve Kontrollerin Yaş ve Cins Dağılımı.....	43
<b>Tablo 14.</b> Migrenlilerde ve Kontrol Grubunda nNOS Genotipleri ve Allelleri...	43
<b>Tablo 15.</b> Auralı ve Aurasız Migrenlilerde nNOS Genotip Dağılımı.....	44
<b>Tablo 16.</b> Migrenli Grupta Atak Sıklığı ile nNOS Genotipi İlişkisi.....	45
<b>Tablo 17.</b> Migrenlilerde Baş Ağrısı Başlama Yaşı ile nNOS Genotipi İlişkisi....	46

## ŞEKİLLER LİSTESİ

- Şekil 1.** PCR reaksiyonu; denatürasyon, bağlanma (annealing) ve sentez (extension) aşamaları..... 33
- Şekil 2.** nNOS C276T polimorfizminin PCR/RFLP sonrası görüntüsü..... 43

## SEMBOLLER LİSTESİ

<b>NH<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)</b>	: Amonyum Sülfat
<b>BH<sub>4</sub></b>	: 5,6,7,8-tetrahidrobiopterin
<b>bp</b>	: Baz Çifti
<b>CaM</b>	: Kalmodulin
<b>CADASIL</b>	: Serebral Otozomal Dominant Arteriyopati Subkortikal Enfarkt ve Lökoensefalopati
<b>COMT</b>	: Katekol-O-Metiltransferaz
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik Asit
<b>dGTP</b>	: Deoksiguanozin Trifosfat
<b>dCTP</b>	: Deoksisitozin Trifosfat
<b>DBH</b>	: Dopamin Beta Hidroksilaz
<b>DNAase</b>	: DNA Yıkıcı Enzim
<b>dNTP</b>	: Deoksiribonükleotid Trifosfat
<b>DRD</b>	: Dopamin Reseptör Geni
<b>eNOS</b>	: Endotelyal Nitrik Oksid Sentaz
<b>EDTA</b>	: Etilendiamintetraasetik Asit
<b>EtBr</b>	: Ethidium Bromid
<b>FAD</b>	: Flavin Adenin Dinükleotid
<b>FHM</b>	: Familyal Hemiplejik Migren
<b>FMN</b>	: Flavin Mononükleotid
<b>GIS</b>	: Gastrointestinal Sistem
<b>GST</b>	: Glutation S-Transferaz
<b>Hem</b>	: Demir Protoporfirin IX
<b>5-HTT</b>	: 5-Hidroksitriptamin (Serotonin)
<b>5-HTTLPR</b>	: SERT Geninin Transkripsiyonel Kontrol Bölgesindeki Polimorfik Bölge
<b>5-HT2A</b>	: 5-Hidroksi Triptamin (serotonin) Reseptör-2A
<b>IFN-γ</b>	: İnterferon-gama
<b>IHS</b>	: Uluslar Arası Baş Ağrısı Derneği
<b>iNOS</b>	: İndüklenebilir Nitrik Oksid Sentaz
<b>kb</b>	: Kilobaz

<b>MAO</b>	: Monoamin Oksidaz
<b>MET</b>	: Mitokondriyal Elektron Transport Sistemi
<b>MgCl<sub>2</sub></b>	: Magnezyum Klorür
<b>mRNA</b>	: Mesajcı RNA
<b>MRG</b>	: Magnetik Rezonans Görüntüleme
<b>MRS</b>	: Magnetik rezonans spektroskopi
<b>MTHFR</b>	: Metilen Tetrahidrofolat Redüktaz
<b>NADPH</b>	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
<b>NaClO<sub>4</sub></b>	: Sodyum Perklorat
<b>NMDA</b>	: N-Metil-D-Aspartat
<b>NO</b>	: Nitrik Oksid
<b>NOS</b>	: Nitrik Oksid Sentaz
<b>nNOS</b>	: Nöronal Nitrik Oksid Sentaz
<b>PET</b>	: Pozitron Emisyon Tomografi
<b>PMNL</b>	: Polimorfonükleer Lökosit
<b>PCR</b>	: Polimeraz Zincir Tepkimesi
<b>RE</b>	: Restriksiyon Endonükleazı
<b>RFLP</b>	: Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi
<b>RNAase</b>	: RNA Yıkıcı Enzim
<b>rpm</b>	: Dakikadaki Devir Sayısı
<b>SDS</b>	: Sodyum Dodesil Sülfat
<b>SSR</b>	: Basit Dizi Tekrarları
<b>TE</b>	: Tris-Etilendiamintetraasetik Asit
<b>TBE</b>	: Tris-Borat- Etilendiamintetraasetik Asit
<b>TNF</b>	: Tümör Nekrozis Faktör
<b>TNK</b>	: Trigeminal Nükleus Kaudalis
<b>SERT</b>	: Serotonin Transporter
<b>Tris-HCl</b>	: Tris-Hidroklorid
<b>VNTR</b>	: Değişken Sayıda Ardışık Tekrar

## 1.GİRİŞ

Baş ağrısı, M.S. 130'lu yıllardan beri bilinen bir hastalık olup, günümüzde birçok farklı tipteki baş ağrıları tanımlanmıştır. Uluslararası Baş Ağrısı Derneği (IHS) tarafından 2006 yılında yenilenen sınıflandırmaya göre baş ağrıları, başta migren olmak üzere 13 temel gruba ayrılmıştır (1-3). Migren, çok geniş yelpazeli nörolojik ve gastrointestinal ve otonomik değişikliklerin çeşitli kombinasyonları şeklinde non-nörolojik belirtilerle karakterize birincil bir baş ağrısı sendromudur (4). Migren atakları stres, açlık, öğün atlama, uyku düzenindeki sapmalar, ağır kokular, bazı yiyecek ve özellikle alkollü içecekler, hava değişimi, menstruasyon gibi çeşitli tetikleyici faktörlerle ortaya çıkmakla birlikte bu faktörler tek başlarına etkili değildir (5). Hemen hemen her yaşta başlayabilen migren, en sık 25-55 yaşlar arasında olmak üzere daha çok kadınlarda görülmektedir. Migrenin iş gücü kaybına, üretkenliğin azalmasına, sosyal aktivitelerin iptal edilmesine neden olması yaşam kalitesini direkt etkilemesi, tedavisine önem kazandırmaktadır (6).

Migren genetik faktörlerin de önemli bir rolü olduğu oldukça karmaşık bir etiyopatogeneze sahiptir. Bu nedenle ve yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesi amaçlanarak son yıllarda migrenin çeşitli nörotransmitterler, enzimler, reseptörler, nöropeptidler, transport proteinleri gibi moleküllerle ilişkisinin araştırıldığı genetik çalışmalar hız kazanmıştır.

Nitrik oksid (NO) vazodilatasyon, nörojenik inflamasyon ve nosisepsiyonda rol oynaması nedeniyle migren etiyopatogenezine katkıda bulunan olası moleküllerden birisidir (7-11). NO donörü olan gliseril trinitrat (GTN) ve histaminin vazodilatör etkisi ile migren ataklarını tetiklediği gözlenmiştir (7, 12, 13). GTN ve histaminin sebep olduğu migrenin olası mediyatörü olan NO'nun migren atağının sadece başlangıcında değil tamamında rol oynayabileceği belirtilmektedir (14). NO, NO-sGMP yolağının aktivasyonu ile vasküler dilatasyona neden olarak migren atakları sırasında serebral kan akımını değiştirmektedir ve ayrıca intrakranyal arterlerin etrafında bulunan nonadrenerjik nonkolinerjik perivasküler sistemden (NANC) kaynaklanan NO, serebral arterlerin nörojenik dilatasyonuna aracılık etmektedir (8, 15-17). NO'nun perivasküler nörojenik inflamasyonu başlatması hiperaljezide ve ağrının iletimi için gerekli olan

nörotransmisyonunda önemli role sahip olduğunu göstermektedir (8, 18, 19). Mashimo ve arkadaşları (10) nitrogliserin ile oluşan baş ağrısının nedenini NO'nun kan damarları üzerindeki etkisinden bağımsız olarak nosiseptörleri direkt uyarması hipotezi ile açıklarken, bir başka çalışma migrenli hastalara ekzojen NO kaynağı olan nitrogliserinin intravenöz infüzyon ile verilmesini takiben gelişen ataklardan orta serebral arterde gelişen vazodilatasyonu sorumlu tutmuştur (20). Sonuç olarak, NO'nun migren üzerinde hem kan damarlarını genişleterek hem de nosiseptörleri direkt etkileyerek anahtar bir molekül olabileceği düşünülmektedir.

Daha önce NOS enzimlerindeki çeşitli polimorfizmlerin migrenle ilişkisinin araştırıldığı çalışmalar yapılmıştır. Borroni ve arkadaşlarının (21) çalışmasında, eNOS geni Glu298Asp polimorfizminin auralı migren için bağımsız bir risk faktörü olduğu bildirilmiştir.

Migren etiyolojisinde kilit bir molekül olarak tanımlanan NO'nun sentezinden sorumlu NOS enzimlerinin genetik polimorfizminin hastalıkla ilişkisini belirlemek amacıyla bu çalışmada nNOS C276T polimorfizmi araştırılmıştır. Bu çalışmada nNOS polimorfizminin auralı ve aurasız migrenlilerdeki rolüne, hastalığın başlama yaşı, atak sıklığı gibi parametreler ile genotipleri arasındaki ilişkiye bakılmıştır. Fakat anlamlı ilişki bulunamamıştır. Bu çalışma, nNOS C276T polimorfizminin migrenle ilişkisinin araştırıldığı ilk çalışmadır. nNOS genindeki farklı bir polimorfizmin incelendiği bir çalışmada migrenle anlamlı ilişki bulunamamıştır (22).

NO, migren etiyolojisinin aydınlatılması ve yeni tedavi seçeneklerinin çıkarılması amacıyla incelenmeye değer bir moleküldür. Yapılan çalışmalar NOS inhibitörlerinin akut migren atağının tedavisinde etkili olabileceğini göstermektedir. Ayrıca migrende rolü olan NO'nun kaynağının belirlenmesi ile spesifik NOS inhibitörleri, gelecekteki tedavi yaklaşımlarından biri olabilir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. MİGREN

#### 2.1.1. Baş Ağrısının Tanımı ve Tarihçesi

Ağrı duyusu, genel olarak vücudun herhangi bir yerinden kaynaklanan bir doku hasarına bağlı olan veya olmayan, birçok faktöre bağlı olduğu gibi kişiden kişiye de farklılık gösteren duyuşsal merkezli bir duyu olarak tanımlanmaktadır (1).

Ağrı tiplerinden biri olan baş ağrısı, insanlığın var oluşundan bu yana, çok sık karşılaşılan önemli bir sorundur. Populasyon temelinde yapılan çalışmalar ile hayat boyunca, en az bir defa herhangi bir tip baş ağrısından etkilenme oranının erkeklerde %90 ve kadınlarda %95 olduğu tahmin edilmektedir (23). 'Baş ağrısı' deyimini kafada orbitanın üstünden suboksipital bölgeye kadar duyulan ağrı ve rahatsızlık hissi için kullanılır. Ağrının kaynağı her zaman bu bölgede olmayıp yüz, dişler veya boyunda da olabilir ve bu tanımlanan alanlara yayılabilir (24). Baş ağrıları ya intrakranyal ya da ekstrakranyal olarak bulunan ağrıya duyarlı anatomik oluşumların, değişik nedenlere bağlı olarak etkilenmeleri sonucu ortaya çıkar (25).

Intrakranyal ağrıya duyarlı yapılar Willis halkasındaki arterleri ve bunların orta boy dallarının ilk birkaç santimetresini, meningeal arterleri (dural), geniş venleri, dural venöz sinüsleri ve duralın kan damarlarına komşu kısımlarını içermektedir. Ağrıya duyarlı yapılar; eksternal karotid arterin kafa dışında kalan kısımlarını ve bunun dallarını, kafa ve ense kaslarını, derinin sinirlerini, servikal sinirleri ve köklerini, sinüslerin mukozasını, dişleri ve bu yapılar genişletilirse V, VII, IX ve X'uncu kafa çiftlerini içerir (2, 26, 27). Ağrıya duyarlı yapılar inflamasyon, traksiyon, kompresyon, malign infiltrasyon ve benzeri durumlardan etkilenerek baş ağrısına yol açarlar. Yüzeysel yapıların ağrıları hemen lezyonun üstüne yansırken daha derinde yerleşmiş olan lezyonların ağrıları uzak bölgelere yansıyabilir (26).

Baş ağrısının tarihçesi M.S.130 yıllarına dayanmaktadır. Eski Yunan literatüründe Galen, baş ağrısı sendromlarından bahsetmiş, bugün bilinen anlamda migrenin pek çok semptomunu detaylarıyla anlatmıştır. Orta çağ boyunca, baş ağrılarını tedavi amacıyla, dolaşımda basınç yapan fazla kanın alınması (flebotomi) gibi

yöntemlere başvurulmuştur. 17. yüzyıldan başlayarak baş ağrılarının başta mide olmak üzere bazı iç organlardaki fazla kan akımından (konjesyon) kaynaklandığı düşünülmüştür. Spesifik bilimsel baş ağrıları çalışmaları ise 19. yüzyıldan sonra başlamıştır.

1600'lü yıllarda, İngiliz Doktor Thomas Willis, baş ağrılarının beyine giden kan miktarındaki ani artıştan kaynaklandığını ileri sürmüştür. Willis, kan damarlarındaki ani genişlemenin, çevredeki sinirlere basınç yaptığını ve bunun da ağrıyı tetiklediğini belirtmiştir. Willis'in bu görüşü biraz değişerek günümüze kadar gelmiştir. Bu görüş, son 20 yılda gelişen teknoloji ile değişime uğramıştır. Son yıllardaki teknolojik gelişmeler, beynin dış zarı olarak tanımlanan duramater'de bulunan sinir uçları ile ilgili bilgimizi arttırmıştır. Bu bilgiler ışığında baş ağrıları, günümüzde çok daha ayrıntılı bir şekilde incelenmektedir (28, 29).

### **2.1.2. Baş ağrılarının Sınıflandırılması**

Baş ağrıları, 1988'de, Uluslararası Baş Ağrısı Derneği (International Headache Society-IHS) tarafından detaylı olarak sınıflandırılmış ve 2006'da Uluslararası Baş Ağrısı Derneğinin Baş Ağrısı Sınıflandırma Komitesi tarafından aynen kabul edilmiştir (2, 3). Bu sınıflandırmaya göre baş ağrıları 13 tipe ayrılmıştır (Tablo 1).

Bu gruplar arasında sayılan migren ve gerilim tipi baş ağrılarından dönüştüğü kabul edilen, günlük aşırı ağrı kesici kullanımına bağlı olarak oluşan, 'günlük süregelen baş ağrıları' vardır. Bu grup Uluslararası Baş Ağrısı Derneği tarafından 'bazı maddelerin kullanılması veya kesilmesi ile ilişkili olan baş ağrıları' arasında sayılsa da, bazı araştırmacılar bu baş ağrılarını, ayrı bir grup olarak kabul etmektedirler (5).

**Tablo 1.** Uluslar Arası Baş Ağrısı Derneğinin Baş Ağrıları Sınıflandırması

1.	Migren
2.	Gerilim tipi baş ağrısı
3.	Kafa travması ile ilgili baş ağrıları
4.	Cluster (küme) baş ağrısı ve kronik paroksizmal hemikranya
5.	Vasküler hastalıklarla ilgili baş ağrıları
6.	Vasküler olmayan intrakranyal bozukluklarla ilgili baş ağrıları
7.	Maddelere ve bırakılmalarına bağlı baş ağrıları
8.	Beyin dışı enfeksiyonlara bağlı baş ağrıları
9.	Metabolik anormalliklere bağlı baş ağrıları
10.	Kranyum, ense, göz, kulak, burun, sinüs, diş, ağız ya da diğer yüz veya kranyal yapıların bozukluklarına bağlı baş ve yüz ağrıları
11.	Kranyal nevrалjiler, sinir kökü ağrıları ve deafferantasyon ağrısı
12.	Baş veya yüz ağrılarının diğer tipleri
13.	Sınıflandırılmayan baş ağrıları

### **2.1.3. Migrenin Tanımı ve Sınıflandırılması**

Migren ilk defa M.S. II. yüzyılda Areatus tarafından, başın tek tarafında hissedilen, bulantının eşlik ettiği ve ağrısız dönemler içeren paroksizmal bir baş ağrısı olarak tarif edilmiştir. Tek taraflı baş ağrısı olması nedeniyle önceleri hemikranya, daha sonraları hemigranea ve migranea terimleri kullanılmıştır. Günümüzde Fransızca'dan alınan "migreneur" teriminden dönüştürülerek migren denilmiştir (26). Migren genetik olarak yatkın bireylerde, primer beyin disfonksiyonu sonucu nörovasküler reaksiyon ürünü olarak aralıklarla gelen ve nadiren sabit olabilen baş ağrılarıdır (27, 30). Migren, çok geniş yelpazeli nörolojik ve non-nörolojik belirtilerle tekrarlayan birincil bir baş ağrısı sendromudur. Baş ağrısı ile beraber nörolojik, gastrointestinal ve otonomik değişikliklerin çeşitli kombinasyonları görülür.

Migrenin nedeni tam olarak bilinmediğinden sınıflandırması tanımlayıcı terimlere dayanmaktadır. Migren hastalığı IHS Baş Ağrısı Sınıflandırma Komitesi

tarafından hazırlanan bir tabloya göre sınıflandırılmaktadır (Tablo 2) (26).

**Tablo 2.** Migren Sınıflandırması

A.	Aurasız migren
B.	Auralı migren 1. Tipik auralı 2. Uzun auralı 3. Familial hemiplejik 4. Baziler migren 5. Baş ağrısız migren aurası 6. Ani ortaya çıkan auralı migren
C.	Oftalmoplejik migren
D.	Retinal migren
E.	Migrenle ilişkili veya migren prekürsörü olabilecek çocukluk çağı periyodik sendromları 1. Çocukluk çağının benign paroksizmal vertigosu 2. Çocukluk çağı alternan hemiplejisi
F.	Migren komplikasyonları 1. Status migreneus 2. Migren enfarktı
G.	Sınıflandırılmayan migren benzeri bozukluklar

Uluslararası Baş Ağrısı Derneği 1988’de auralı ve aurasız migren tanı kriterlerini tanımlamışlardır (Tablo 3). Bu tanı kriterleri günümüzde halen geçerliliklerini sürdürmektedir. Migren tanısında en önemli faktör, dikkatli ve detaylı bir hikaye ile tüm olayların zamansal olarak tanımlanmasıdır. Genel fizik ve nörolojik muayene normaldir. Migren tanısını koyduran özel bir tanı yöntemi mevcut değildir (2, 3).

**Tablo 3.** Auralı ve Aurasız Migren Tanı Kriterleri

<p><b>Auralı migren tanı kriterleri</b></p> <p>A ve B. Aşağıdakilerden en az 3 kritere uyan, 2 veya daha fazla migren atağı</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1) Kortikal ve/veya beyin sapı disfonksiyonu gösteren, bir veya daha fazla geri dönüşümlü aura semptomu</li><li>2) Aura semptomlarından bir tanesinin 4 dakikadan uzun sürede gelişmesi veya birbirini izleyen 2 veya daha fazla semptom olması</li><li>3) Hiçbir aura semptomunun 60 dakikadan uzun sürmemesi ve birden fazla semptom varsa bu sürenin oranlı olarak artması</li><li>4) Auradan sonra baş ağrısının başlamasına kadar geçen sürenin 60 dakikayı geçmemesi</li></ol> <p>C. Aurasız migren için kabul edilen “E” tanı kriterleri ile uyumlu ayırıcı tanı.</p>
<p><b>Aurasız migren tanı kriterleri</b></p> <p>A. Aşağıdaki kriterlere uygun en az 5 atak</p> <p>B. Tedavisiz veya etkisiz tedavi altında 4-72 saat süren baş ağrısı atakları</p> <p>C. Aşağıdaki özelliklerden en az ikisini taşıyan baş ağrısı</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1) Tek taraflı yerleşim</li><li>2) Zonklayıcı özellik</li><li>3) Orta veya ağır şiddette, günlük yaşam aktivitelerini engelleyecek derecede ağrı</li><li>4) Fiziksel aktiviteyle (merdiven çıkma vb. günlük rutin aktivite) artış gösteren ağrı</li></ol> <p>D. Ağrı sırasında en az aşağıdakilerden biri;</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1) Bulantı ve/veya kusma</li><li>2) Fonofobi ve fotofobi</li></ol> <p>E. Aşağıdakilerden en az biri</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1) Öykü, fiziksel ve nörolojik muayene sekonder bir baş ağrısını düşündürmemeli</li><li>2) Öykü ve/veya fiziksel ve/veya nörolojik muayene, sekonder bir baş ağrısı nedenini düşündürse bile uygun incelemelerle böyle bir olasılığın dışlanmış olması</li><li>3) Baş ağrısının sekonder bir nedenin varlığına rağmen migren atağının bu nedenden önce ortaya çıkmış olması/ikisi arasında zamansal ilişki kurulamaması</li></ol>

#### **2.1.4. Migrenin Etiyolojisi ve Patogenezi**

Migren baş ağrısı, genetik yatkınlığı olan kişilerde endojen ve/veya ekzojen faktörlerle tetiklenen nöronal vasküler olaylar zinciri sonucu ortaya çıkmaktadır. Bu olaylar zinciri sırasında trigeminal vasküler sistemin aktivasyonu migren baş ağrısının esasını teşkil eder. Son yıllarda elde edilen bilgiler ışığında, migren patofizyolojisinde vasküler teoriden uzaklaşmış, integre norövasküler teori benimsenmiştir (31). Vasküler teori kranyal damarlardaki vazospazm ve vazodilatasyon ile migren semptomlarının ortaya çıktığını öne sürerken, nörovasküler teori migren baş ağrısında nöronal aktivasyona ikincil olarak vasküler değişiklikler olduğunu öne sürmektedir. Nöral olaylar sonucunda ağrıya duyarlı yapılarıdaki kan damarları dilate olmakta bu ise daha fazla trigeminal sinir aktivasyonuna ve ağrıya yol açmaktadır (32-34).

Migren baş ağrısının patogenezi anlamak için başın ağrı duyusunu taşıyan trigeminal siniri ve vasküler innervasyonu iyi bilmek gerekmektedir. Trigeminal sinir oftalmik dalı aracılığı ile pia, araknoid ve dura materdeki damarları, intrakranyal damarların proksimalini yoğun bir biçimde inerve etmektedir.

Trigeminal aksonların ve nosiseptörlerin perivasküler lokalizasyonu nedeniyle meninksler ve büyük damarlar ağrıya duyarlı iken trigeminal inervasyondan yoksun beyin parenkiminde ağrı duyusu bulunmamaktadır. Küçük çaplı trigeminal sinir liflerinin bir kısmı aksonal dallanma nedeniyle hem pia-araknoid (orta serebral arter) hem de dural damarları (orta meningeal arter) inerve etmektedir (35, 36). Trigeminal sinirin periferik aksonlarının aktivasyonu ağrı duyusunu trigeminal ganglion ve santral aksonları aracılığı ile 2. nöronlarını oluşturan C2'den bulbusa dek uzanan Trigeminal Nükleus Kaudalis'e (TNK) iletir. Periferik trigeminal aksonların aktivasyonu bir yandan da antidromik olarak içerdiği nöropeptitlerin (CGRP, substance P, NKA) perivasküler alana salınması ile vazodilatasyon, kan akımı artışı ve protein ekstravazasyonuna yani nörojenik inflamasyona neden olur. Bu vazodilatasyon ve ödem, perivasküler trigeminal aksonların daha fazla uyarılmasına ve daha fazla ağrıya yol açmaktadır (31, 37).

Ağrı duyusu TNK'dan çıkararak beyin sapında orta hatta çapraz yapıp trigeminal lemniskusu oluşturarak talamusun posteromediyal ventral çekirdeğinde sonlanır, daha sonra primer somatosensoryel korteks ve singulat kortekse ulaşır. Ağrıya eşlik eden afektif ve emosyonel durumdan ise parabrakial nukleus, talamusun intralaminar nukleusu, amigdala ve insuler korteksi içine alan farklı bir yolağın aktivasyonu sorumludur (38, 39).

Beyin sapı yapılarının migren atakları sırasında aktive olduğu PET ve fonksiyonel MRI çalışmalarıyla gösterilmiş, buna dayanarak beyin sapının migren jeneratörü olabileceği dene sürülmüştür (40).

Migrenlilerin 1/5'inde ağrıdan 20-40 dakikance ortaya çıkan görsel semptomlara bir oksipital lobdan kaynaklanan, yayılan nöronal ve glial eksitasyon neden olmaktadır. Son zamanlarda fMRI ve PET alışmaları ile görsel aura semptomlarının altında yatan patofizyolojik mekanizmanın Leao'nun yayılan kortikal depresyon dalgaları olduğu gösterilmiştir (41-44). Bu fenomen yayılan kortikal potansiyelde ani azalma, ekstrasellüler iyon ve nrotransmitterlerde geçici artış ve buna eşlik eden hiperemiyi takip eden uzun süreli nöronal uyarılabilirlikte ve kan akımında azalma ile karakterize yavaş yayılan (3 mm/dk) bir dalganın korteks boyunca ilerlemesidir. Migren ağrısı sırasında da oksipital korteksten başlayarakne doğru yayılan hiperemi ve ardından oligemi dalgasının görsel semptomlarla korele olarak ortaya çıktığı gösterilmiştir. Dahatesi korteksteki oligemi migren ağrısı sırasında da sürmekte bazı aurasız migren ağrılarında da gözlenebilmektedir. Auranın baş ağrısına neden olabileceği 60 yıla yakın bir sredirne sürülmesine karşın aura ve migren arasındaki sebep sonuç ilişkisi 2002 yılında gösterilmiştir. Laser Spectle adı verilen yeni bir görüntüleme yöntemi kullanılarak serebral korteks ve dura materdeki kan akımı aynı anda grntlenebilmiş ve intrinsik beyin aktivitesinin, yayılan kortikal depresyonun meningeal trigeminal sinir uçlarını aktive edebildiği gösterilmiştir. Yayılan kortikal depresyon sonrası korteks, oligemi fazında iken ağrıya hassas dura materde 45 dk. süren kan akımı artışı ve vazodilatasyon gözlenmiştir. Bu cevabın trigeminal sinirin oftalmik dalı aracılığı ile ortaya çıktığı ve beyin sapındaki ağrıya duyarlı çekirdeklerin de aktive olduğu gösterilmiştir. Ayrıca yayılan kortikal depresyonun trigeminal sinir

aktivasyonuna yol açarak durada nörojenik inflamasyona neden olduğu da gösterilmiştir (33, 34).

Lokus sereleus ve dorsal Raphe nukleusları gibi aminerjik beyin sapı nukleusları serebral kan akımını düzenlemekte, kortikal nöronal uyarılabilirliğini etkileyebilmekte ve endojen ağrı kontrol mekanizmalarını kontrol edebilmektedirler. Bu yapıların etkisiyle trigeminovasküler sistemin dolaylı veya doğrudan etkilenmesiyle de ağrının ortaya çıkabileceği kuvvetli bir olasılık olarak görünmektedir. Nitekim ağrının bazı migrenlilerde bir baş yarımında hissedilmesi trigeminovasküler yapıların tek taraflı etkilenmesi ile açıklanmaya çalışılmaktadır. Trigeminal kontrol altında olduğu kabul edilen ekstrakraniyal ağırlıklı nörojenik inflamasyon ve vasküler bir dilatasyonun ortaya çıkışı ile birlikte merkezi ağrı iletim sistemlerinin baskılanmasında bir yetersizlik ve ağrı eşiğinde düşme ağrının periferik ve merkezi mekanizmaları arasında kabul gören görüşlerdir (5).

Migrenin patogenezinde santral ağrı kuramı da vardır. Burada serotonin yetmezliği söz konusudur. Serotonin, periferde algojenik bir madde olarak etki yaparken SSS'de ağırlı impulsları inhibe eden bir nöromedyatör olarak görev yapar. Migrenli hastalarda iktal ve interiktal dönemlerde trombositlerden serotonin salınım bozukluğu değişik çalışmalarla ortaya konmuştur (45).

Migrenle gerilim tipi baş ağrısının örtüşen birçok özelliği tespit edilmiştir. Bazen birbirinden ayırt etmesi oldukça zor olabilmektedir. Örneğin; ağrının yerleşim açısından, migrenlilerin 1/3'ünde ağrı tüm başı kapsarken, gerilim tipi ağrıların 1/5'inde yarım (unilateral) kalmaktadır. Zonklayıcı özelliğin gerilim baş ağrıların %20-30'unda olduğu kaydedilirken, baş hareketleriyle ağrıda artış, bulantı, ışığa karşı tepki (fotofobi) gibi daha çok migren türü ağrılarla beraber görülmesi beklenen belirtilerin, gerilim türü ağrılarda da %5-50 gibi değişen oranlarda olduğu belirlenmiştir. Nitekim kronik tekrarlayan ağrılarla başvuran hastaların en az %15'inde ağrının aurasız migren mi, yoksa gerilim tipinde mi olduğu klinik olarak net belirlenememektedir (5). Ancak, genel olarak belirlenmiş olan gerilim tipi baş ağrısı ile migren aralarındaki fark çizelgede gösterilmiştir (25).

**Tablo 4.** Migren ile Gerilim Tipi Baş Ağrısı Arasındaki Ayırt Edici Genel Özellikler

<b>Özellikler</b>	<b>Migren</b>	<b>Gerilim tipi</b>
Lokalizasyonu	Başın ön kısmı ve unilateral	Bilateral, frontal, oksipital
Bulantı-kusma	Zaman zaman	Yok
Meydana çıkışı	Beklenmedik, genellikle sabah	Stres sonrası ya da çalışma döneminde
Boyun ve kafa kaslarında lokalize duyarlılık ve spazm	Yok	Var
Sıklığı	Beklenmedik ve periyodik	Gerilimli dönemlerde ve uzun süreli
Ağrı karakteri	Zonklayıcı	Devamlı, sıkışma ve basınç duyumu
Ruhsal gerilimle ilişkisi	Değişken	Her zaman

### **2.1.5. Migrenin Epidemiyolojisi**

Migren prevalans çalışmaları batı dünyasında bu tür baş ağrısının erişkin toplumunda kadınlarda %12-24; erkeklerde ise %5-12 oranlarında görüldüğünü göstermektedir. Türk Baş Ağrısı Epidemiyolojisi Çalışma Grubunun tüm Türkiye'yi yansıtabilecek şekilde yaptığı baş ağrısı ile ilgili çok merkezli epidemiyolojik bir çalışmada; 15-55 yaş grubu ele alındığında migren prevalansı %16.4 olarak bulunmuştur. Cinsiyet dağılımına baktığımız zaman bu oranlar kadınlar için %21.8, erkekler için %10.9 olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu değerler göreceli olarak yüksek izlenimi vermekle birlikte yakın zamanda batıda yapılmış çalışmalarla uyumludur. Toplumumuzda kadınlarda – beklendiği gibi- migrene daha sık rastlanırken, bu baş ağrısının en çok gözlemlendiği yaş dilimi 30-39 olarak bulunmuştur. Bu batı toplumlarında da aynıdır. Bu yaş aralığında kadın erkek oranı 3-4 katına çıkar. Öte yandan eğitim düzeyi düşük, eşinden ayrılmış veya dul olanlarda migrenle daha sık karşılaşılırken, kırsal veya kent yerleşimli yaşam ve genel sosyo-ekonomik düzey migrenin ortaya çıkışında anlamlı bir etki göstermemektedir.

Baş ağrılarının ülkelere getirdiği ekonomik kayıp ise oldukça önemlidir. Türk Baş Ağrısı Epidemiyolojisi Çalışma Grubunun, 1998'de yaptığı çalışmaya göre, migrenin yılda 5.4 gün iş kaybına neden olduğu ve 50 trilyon TL maddi yük oluşturduğu belirlenmiştir (6, 28).

### **2.1.6. Migrenin Kliniği**

Migren hemen hemen her yaşta başlayabilmektedir. Genellikle ilk atak gençlik çağında olmaktadır ve kırklı yaşlara kadar hastaların %90'ında ilk atak geçirilmiş olur. Migren, en sık 25-55 yaşları arasında görülmektedir (6). Migren yaşlı insanlarda da başlayabilmesine rağmen bu kişilerin ciddi intrakranyal rahatsızlıklar şüphesiyle incelenmeleri gereklidir. Migren, gelir düzeyi düşük olan kişilerde daha siktir (46). Eğitim düzeyi arttıkça kadınlarda migren prevalansı azalmaktadır, aile öyküsünde Raynaud Hastalığı ve günde altı bardaktan fazla kahve tüketimi, artmış migren olasılığı ile ilişkili bulunmuştur (47). Hastaların %90'ında ailede migren öyküsü bulunmaktadır. Migren prevalansı pek çok durumdan etkilenmektedir. Değişik çalışmalarla migren prevalansının kadınlarda %20 ve erkeklerde %6 oranlarında görüldüğü tespit edilmiştir (48). Migren prevalansı ırklara göre değişim gösterebilir. Örneğin, migrenli kadınlar arasında yapılan bir çalışmada, Kafkas kökenli beyazlarda bu oran %20.4 iken, siyahlarda %16.2 ve Asyalılarda %4.8 bulunmuştur (49). Yapılan başka bir çalışmada, beyaz Amerikalılarda migren prevalansı %20.4, Afrika kökenli Amerikalılarda %16.2 ve Asya kökenli Amerikalılarda %9.2 olarak bulunmuştur (50).

Migren değişik sıklıklardaki ataklarla seyreden bir hastalıktır. Bir defa migren atağı geliştiğinde ilerleyen yıllarda daha hafif ve daha az sıklıkta olmak üzere tekrarlama eğilimi göstermektedir (8). Amerikan migren çalışmasında migren atak sıklığı ayda birden az olanların oranı ise %36, 1-3 arası olanlar %38, daha sık olanların oranı ise %26 olarak bulunmuştur (50). Migren ataklarının ortaya çıkışını tetikleyen ve ağrı varsa bunu şiddetlendiren bazı faktörler mevcuttur (Tablo 5). Bu tetikleyici faktörlerin aurasız migrende %90 ve auralı migrende %60 oranında görüldüğü söylenmektedir. Bunların başında stres, açlık, uyku düzenindeki değişiklikler, bazı yiyecek ve içecekler ile menstrüasyon gelmektedir (51-55).

Migren sadece bir ağrı dönemi değildir. Migreni serebral disfonksiyona bağlı olarak şekillenen ve farklı dönemler içinde ortaya çıkan semptomlar kompleksi olarak ele almak gereklidir (26). Migren atağı prodrom, aura, ağrı ve postdrom dönemlerini içerir (Tablo 6).

Prodrom dönemi ağrıdan önceki saatler, hatta bazı kişilerde günler içerisinde yavaşça gelişen semptomları içermektedir. Bunlar genellikle psikolojik, nörolojik ve otonomik/sistemik semptomlardır. İyi bir sorgulama yapıldığında, migrenlilerin %50-60'nda prodrom semptomlarının bir veya daha fazlasına rastlanmaktadır (2). En sık görülen prodrom dönemi semptomları Tablo 6'da gösterilmiştir.

**Tablo 5.** Migren Ataklarının Ortaya Çıkışını Kolaylaştıran Etkenler

- . Uyku düzeninde sapmalar (fazla ya da az uyuma)
- . Açlık, öğün atlama
- . Bazı besinler (yumurta, kafein, çikolata, kabuklu deniz hayvanları vb.)
- . Alkollü içecekler (şarap, bira vb.)
- . Fizik egzersiz ve aşırı yorgunluk (özellikle güneş altında veya sıcakta)
- . Şiddetli kokular
- . Stres
- . Menstrüasyon
- . Hava değişimleri (lodos vb.)
- . Sigara
- . Bazı ilaçlar (nitrogliserin, rezerpin, oral kontraseptifler vb.)
- . Minör kafa travmaları

**Tablo 6.** Migren Atağının Dönemleri

- 1)** Prodrom dönemi
- 2)** Aura dönemi (varsa)
- 3)** Ağrı dönemi
- 4) Postdrom dönemi

**Tablo 7.** Migrende Görülen Prodrom Dönemi Semptomları

<p>Nöro-psikolojik semptomlar</p> <ul style="list-style-type: none"><li>. Aşırı duyarlılık, tepkisellik, depresif duygudurumu</li><li>. Öfori, nadiren hiperaktivite</li><li>. Durgunluk, donukluk, konsantrasyon ve dikkatte azalma, düşüncede yavaşlama</li><li>. Kelime bulma güçlüğü, konuşurken takılma</li><li>. Artmış ışık-ses-koku duyarlılığı</li><li>. Esneme, uyuma isteği</li></ul> <p>Sistemik-otonomik semptomlar</p> <ul style="list-style-type: none"><li>. Ense sertliği</li><li>. Halsizlik</li><li>. Açlık, tatlı yeme isteği, iştah artışı veya iştahsızlık</li><li>. Aşırı su içme, vücutta su tutulması, sık idrara çıkma</li><li>. Karında şişlik hissi, kabızlık veya ishal hali</li></ul>
---

Aura dönemi, auralı migreni ve baş ağrısız aurası olan migrenlilerde görülmektedir. Auralı migreni olan hastada hem auralı hem de aurasız ataklar görülebilir. Aura dönemi genellikle prodrom döneminin ardından ve ağrı döneminin öncesinde ortaya çıkmaktadır. Bu evre hasta tarafından prodrom evresine göre çok daha net olarak ifade edilir. Aura döneminde kortikal veya beyin sapı disfonksiyonu ile uyumlu semptomlar ortaya çıkmaktadır. Aura semptomları çoğunlukla 5-20 dakika içerisinde gelişmekte ve 60 dakikayı geçmemektedir. Ender olarak baş ağrısı ile birlikte başlayabilir ve aura dönemi 60 dakikadan fazla sürebilir.

Aura bulguları çoğunlukla görsel bulgulardır. Görsel aura bulguları; yarı alanı görememe (hemianopsi), yarı alanda (bazen tüm görme alanında) parlak ışıklar veya karanlık noktalar görme, zigzag/kırık çizgiler görme şeklindedir. Nadir olarak aura bulguları duysal (hemihipoestezi veya parestezi), motor (hemiparezi veya pleji), afazi, oftalmopleji, beyin sapı disfonksiyonu (baziler semptomlar: çift görme, bulantı, kusma, baş dönmesi, motor ve duysal kusurlar, dizartri gibi bulguların tümü veya birkaçı) şeklinde olabilir ve bunlara vizüel bulgular eşlik edebilir veya etmeyebilir (56-58).

Baş ağrısının karakteri, süresi, şiddeti, eşlik bulguları kişiden kişiye veya ataktan atağa değişebilir (57). Ağrı dönemi kendi içerisinde ağrının başlaması, ağrı ve ağrının sonlanması şeklinde üç bölümde incelenir.

Ağrının başlama evresinde hastalar “ensede, başın arkasında, başın bir tarafında yavaş başlayan bir ağrı-ağrılık-rahatsızlık hissi” tarif ederler. Ağrı belli belirsizdir ve lokalizasyonu net değildir. Çoğu zaman zonklama başlamamıştır. Süresi yarım saat ile iki saat arasındadır. Migren atağının tedavisi için en uygun dönemdir.

Ağrı evresi, çoğu zaman zonklayıcı veya şiddetli bir basınç olarak tanımlanan, bazen saatler, bazen 1-2 gün sürebilen bir dönemdir. Ağrının günlük yaşamı engelleyecek boyutta şiddetlenmesi her atak için söz konusu olmadığı gibi, ağrı bir atak boyunca baştan sona aynı da kalmamaktadır. Kimi zaman birkaç saat dayanılmayacak derecede şiddetli olmakta, sonra kısmi bir hafifleme gösterebilmekte ya da dalgalanmalarla sürmektedir. Yarım baş ağrısı migrenlilerin üçte ikisi için geçerlidir. Ağrı tek taraflı veya çift taraflı başlayabilir. Ağrının yerleşimi de tek veya çift taraflı olabilir. Aynı atak sırasında ağrı bir taraftan diğerine geçebilir. Migrenlilerin %20'sinde ağrı hep aynı baş yarımında görülür (tek tarafa kilitlenmiş ağrı).

Ağrı evresinde ağrıya bulantı, kusma, anoreksi, fotofobi ve fonofobi gibi belirtiler eşlik ederler (Tablo 7). Ağrı hareketle artabilir. Hastalar ağrıyı hafiflettiğinden hareketsiz, yatar pozisyonda, sessiz ve loş bir odada dinlenmeyi tercih ederler (Tablo 8).

Nöroinflamasyonun belirgin olduğu ve vasküler dilatasyonla şekillenen vasküler komponentin ön plana çıktığı ağrı döneminde, migren için tipik olarak kabul edilen diğer bir özellik ağrının zonklayıcı olmasıdır. Zonklayıcı ağrı migrenlilerin yarıya yakınında görülmeyebilir. Bazen basınç tarzında, künt ve bıçak batır tarzda ağrılar görülebilmektedir.

Ağrının sonlanma evresinde, ağrı giderek hafifler ve şekil değiştirir. Zonklayıcı şiddetli ağrı yerini hafif künt bir ağrıya bırakır. Hasta ağrının hafiflemesiyle rahatlayarak uyumayı tercih eder.

**Tablo 8.** Migren Ağrısı Sırasında Görülen Belirtiler

. Bulantı	. Sesten rahatsız olma	. Burun tıkanıklığı
. Kusma	. İşitme bozukluğu	. Burun akıntısı
. İştahsızlık	. Kulak çınlaması	. Ensede ağrı/sertlik
. Mide rahatsızlığı	. Konuşmada zorluk	. Çene hareketinde ağrı
. Kalp Çarpıntısı	. Yürüme bozukluğu	. Alın ve yüzde terleme
. Çift görme	. Unutkanlık	. Kokudan rahatsız olma
. Göz bebeğinde küçülme	. Baş dönmesi	. Alında kızarıklık
. Görme bozukluğu	. Başta ateş basması	. Tahammülsüzlük
.Gözde kızarma/sulanma	. Kafa derisinde acı/sızı	. Halsizlik
.Göz kapağı,yüzde şişme	. Yüzde kızarma/solma	. Terleme
. Işıktan rahatsız olma	. Kollarda uyuşukluk	. Uyuşma

**Tablo 9.** Migren Ağrısını Azaltan Faktörler

. Uyku
. Karanlık ortam
. Sessiz ortam
. Baş sıkma
. Açık havada dolaşma
. Bol oksijenli havada dolaşma
. Soğuk kompres
. Başını yıkama

Postdrom dönemde migren atağının yükü kaybolarak yerini bir rahatlama hissine bırakmaktadır. Bu dönemde hastalar kendilerini yorgun, bitkin ve bezgin hissederler. İştahsızlık yerini giderek bir acıkma hissine bırakır ve bazılarında tatlı yeme isteği belirir. Kişiler bu dönemde sık idrara çıkma isteği duyabilirler. Bu dönem genellikle kişinin kendini iyi hissettiği bir dönemdir (5).

### 2.1.7. Migrenin Genetiği

17. yüzyıldan beri migrende ailesel yatkınlığın rolü olduğu bilinmektedir. Önceki familyal migren çalışmaları açık bir mendelyan kalıtım paterni göstermemesine rağmen son genetik epidemiyolojik çalışmalar ve poligenik multifaktöriyel model kullanılan ikiz çalışmaları genetik katkı hipotezini güçlendirmektedir (59). 1993'te bir serebral otozomal dominant arteriyopati subkortikal enfarkt ve lökoensefalopati (CADASIL) kromozom 19q12 üzerinde bulundu. Demans, nöbetler ve subkortikal enfarktlara ek olarak migren, bu bozukluğun belirgin bir özelliğidir. CADASIL ve migren arasındaki ilişki familyal hemiplejik migrenin (FHM) kromozom 19 ile bağlantısını araştırmada ilham kaynağı olmuştur ve FHM'nin kromozom 19p13 üzerinde bulunmasını sağlamıştır. Test edilen ailelerin %50'si bu genomik bölgeyle bağlantı göstermektedir. Beyin-spesifik P/Q-tip kalsiyum kanal alfa1-subunit geni (CACNL1A4) mutasyonları FHM aile ağacıyla ilgilidir. Bu gen kromozom 19p13'te yer alır. Aynı gendeki mutasyonlar herediter paroksizmal serebellar ataksi ile ilişkili görülmektedir (60).

FHM, auralı migrenin nadir bir genetik alt tipi olmasına rağmen, auralı veya aurasız tipik migrenle klinik benzerlikleri, en azından aynı fizyopatoloji ile ortaya çıkmaları olasılığını akla getirmektedir. FHM'nin genetik lokusunun bulunması moleküler genetik çalışmalara ilgiyi artırdı. Fakat 19p13 bölgesi ile tipik migren arasında bağ kurma çalışmaları çelişkili sonuçlar üretti. Bir çalışmada hem kromozom 19CACNL1A4 geni hem de ona yakın başka bir gen familyal hemiplejik migrenle ilişkili bulunmuştur. Migrenin genetik olarak heterojen olduğu gösterilmiştir (46).

### 2.2. Nitrik Oksid

NO, renksiz, son derece toksik, serbest radikal yapısında olduğundan yarı ömrü çok kısa, lipofilik, oksijensiz ortamda oldukça stabil, suda eriyen bir gazdır. Düşük konsantrasyonlarda iken toksik olmayan, ortamda oksijen varlığında dahi stabilitesini koruyan NO, bilinen en düşük molekül ağırlıklı reaktif (biyoaktif) memeli hücresi sekresyon ürünüdür. NO'nun yarılanma ömrü en fazla birkaç dakikadır. NO, hemoglobin ve superoksit anyonları tarafından hızlı bir şekilde nitrit ve nitrate

oksitlenir. Basit, fakat büyük bir reaktiviteye sahip endojen bir madde olması nedeniyle NO'nun yeni bir nörotransmitter olabileceği de düşünülmektedir (62).

NO, 1970'li yılların sonlarından beri çözünebilir guanilat siklazı aktive eden ve damar düz kaslarında gevşemeye neden olan ligandlardan biri olarak bilinmesine rağmen, yakın tarihlere kadar endojen bir vazodilatör olarak önemi vurgulanamamıştır (63, 64). 1980 yılında Furchgott ve Zawadski asetilkolin uyarısıyla endotel hücrelerince yapılan damar düz kasını gevşetici bir madde bildirdiler. Bu maddeye endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF: Endotel Derived Relaxing Factor) adı verildi. Ardından EDRF ile ilgili araştırmalar hız kazandı. 1987 yılında Ignarro ve arkadaşları (65), Palmer ve arkadaşları (12) ayrı ayrı yaptıkları çalışmalarda EDRF'nin NO olduğunu tespit etmişlerdir. 1992'de Science tarafından NO yılın molekülü seçildi. 1998'de ise NO çalışmalarına Nobel kazandırdı (66).

NO üretildiği hücreden dışarı çıkarak direkt hedef hücrelerine yönelir. Hedef molekülüne bağlanarak direkt olarak veya enzim aktivitesini değiştirerek amaçlanan etkiyi oluşturur. NO'nun karakterize edilmiş en önemli hedefi kükürt ve oksijen türevi yapılarıdır. Makrofajlardaki NO, tümör hücresi ve mikroorganizmalardaki Fe-S taşıyan enzimleri nitrolayarak antimikrobiyal ve antitümöral sitotoksik etki gösterir. Aynı mekanizmayla MET (mitokondriyal elektron transport sistemi) zinciri enzimlerinin aktivitesini de azaltır. Ayrıca NO, tümör hücresindeki ribonükleotid redüktaz'ı inhibe ederek DNA sentezini engeller. NO ferritinle reaksiyona girerek serbest demir salınımına yol açabilir ve bu serbest demir ise lipid peroksidasyonunu başlatabilir. NO'nun bir diğer hedefi sülfhidril (-S-H) grubudur. S-H ile reaksiyona girerek S-nitrozilasyon yapabilir ve plazminojen aktivatörü gibi bazı enzimlerin katalitik fonksiyonlarını arttırabilir. NO'nun önemli bir hedefi de bir oksijen radikali olan süperoksit ( $\cdot\text{O}_2^-$ ) molekülüdür. Bu ikisinin (NO ve  $\text{O}_2^-$ ) tepkimesiyle oluşan peroksinitrit ( $\text{ONOO}^-$ )'ten, nitrojen dioksit ( $\cdot\text{NO}_2$ ) ile hidroksil ( $\cdot\text{OH}$ ) radikali oluşabilir. Yine NO'nun lipidler üzerine etkisiyle lipid peroksidasyonu başlatılarak çeşitli peroksitler üretilebilir (62).

### 2.3. Nitrik Oksid Sentaz Enzimleri ve Özellikleri

Birçok fizyolojik olayda rol oynayan bir mediyatör molekül olan NO sentezinden nitrik oksit sentaz enzimleri (NOS) sorumludur. İlk olarak 1989 yılında tanımlanmalarını takiben, 1991-1994 yıllarında major izoformları ve 1998-1999 yıllarında ise NOS kristal yapıları belirlenmiştir. NOS enzimi, L-arjinin amino asidinden guanido grubunun hidroksilasyonu ile NO ve L-sitrülin sentezini katalizlemektedir. Reaksiyonda 5,6,7,8-tetrahidrobiopterin (BH<sub>4</sub>), FAD (Flavin Adenin Dinükleotid), FMN (Flavin Mononükleotid), Hem (Demir Protoporfirin IX), CaM (Kalmodulin), NADPH ( Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat) kofaktör olarak kullanılmakta ve sonuçta NO, L-sitrülin ve NADP oluşmaktadır.

NOS enzimleri aktif haldeyken 134 kd'lik iki monomerden oluşan dimerik yapıdadır. N-terminal oksijenaz bölgesinde (oxygenase domain) Hem, BH<sub>4</sub> ve L-arjinin bağlanma bölgeleri bulunmakta, C terminal redüktaz bölgesinde (reductase domain) ise FAD, FMN, ve NADPH için bağlanma bölgeleri bulunmaktadır. Bu iki bölge Ca<sup>+2</sup>/kalmodulin tanınma sahası ile birbirine bağlanmıştır.

Vücutta yaygın olarak bulunan ve çeşitli fonksiyonlarda görev alan NOS enzimlerinin üç farklı izoformu bulunmaktadır. Bu izoformlar farklı genler tarafından kodlanmakta ve her bir izoformun lokalizasyonları, regülasyonları, katalitik özellikleri ve inhibitör duyarlılıkları farklıdır (Tablo 10). İnsandaki NOS enzimleri arasında %51-57'lik bir homoloji vardır (70).

NOS, fizikokimyasal ve kinetik özelliklerine göre yapısal (konstitutif) ve indüklenebilir olmak üzere ikiye ayrılır. NOS'ları sentezleyen 3 gen bulunur ve bu genlerden her biri bir NOS izoformunu oluşturur; nöronal NOS (nNOS, tip 1), indüklenebilen NOS (iNOS, tip 2), endotelyal NOS (eNOS, tip 3). nNOS ve eNOS yapısal enzimlerdir; iNOS ise çeşitli uyarılar ile indüklenebilen bir enzimdir.

**Tablo 10.** NOS İzofomları

<b>NOS izoformları</b>	<b>Gen yapısı ve büyüklüğü</b>	<b>Kromozomal yerleşim</b>	<b>Aa sayısı, protein büyüklüğü</b>
<b>Nöronal NOS (nNOS, NOS1)</b>	29 ekzon, 28 intron, > 200 kb	12q 24.2- 12q 24.3	1434 aa, 161 kDa
<b>İndüklenebilir NOS (iNOS, NOS2)</b>	26 ekzon, 25 intron, 37 kb	17cen - q11.2	1153 aa, 131 kDa
<b>Endotelial NOS (eNOS, NOS3)</b>	26 ekzon, 25 intron, 21-22 kb	7q35 – 7q36	1203aa, 133kDa

Sırasıyla kromozom 12 ve 16 tarafından kodlanan NOS1 ve NOS3 fizyolojik şartlarda ilgili reseptörlerin uyarılmasına cevap olarak aktif hale geçerler. nNOS ve eNOS, aktif hale gelmek için  $Ca^{++}$ 'ya ihtiyaç duyar ve bu nedenle konstitutif NOS olarak adlandırılırlar. Nöronlardan ve endotelial hücrelerden izole edilen konstitutif NOS'un sentez süresi kısa ve üretilen NO miktarı çok düşüktür. Bunun sebebi, hücre içi iyonize kalsiyum konsantrasyonu azalmaya başladığı anda enzimin inaktif duruma geçmesidir.

Diğerlerinin aksine, hücre içinde bulunmayan NOS2, kromozom 7 tarafından kodlanır. Endotoksin ve/veya değişik sitokinlere cevap olarak makrofajlar ve diğer hücre tiplerinin uyarılmasıyla  $Ca^{++}$ 'dan bağımsız olarak salgılanan ve normal şartlarda gösterilemeyen NOS2'ye indüklenebilen veya uyarılabilen NOS (iNOS) adı verilir. Bu izoforma ayrıca immunolojik NOS da denilmektedir. Özellikle bakteri lipopolisakaritleri ve interferon- $\gamma$  (IFN-  $\gamma$ ) ile uyarılan makrofajlar bol miktarda NO üretirler. Bu şekilde iNOS'la üretilen NO sentezi saatlerce hatta günlerce devam edebilir (68).

**eNOS** tarafından sentezlenen endotel kaynaklı NO, bazal vasküler tonüsün önemli bir belirleyicisidir. Bu şekilde sistemik dolaşımı regüle eden NO, kalp, karaciğer, beyin gibi organların lokal dolaşımlarının düzenlenmesine de katkıda bulunur (69).

Endotel kaynaklı NO'nun damar bütünlüğünün korunması, lökositlerin endotel hücrelerine yapışmasının ve düz kas hücre proliferasyonunun önlenmesi gibi etkilerinin yanında trombosit adezyonu ve agregasyonunu inhibe etme etkileri de vardır. Bu yüzden kardiyovasküler homeostazda, kritik rolü olan endotel kaynaklı NO'nun aterogenezi inhibe ettiği söylenebilir. NO bu etkisini, prostasiklinle sinerjistik bir etkileşimle sağlar (70).

Sinir sisteminde, enfektif ve toksik etkilere karşı oluşan glial aktivasyon durumunda oluşan **iNOS**'un ürettiği NO'nun enfeksiyon ajanlarına karşı mücadelede önemli bir fizyolojik rol oynadığı tespit edilmiştir. Bu şekilde NOS aktivasyonuna bağlı olarak oluşan NO'nun ayrıca, Parkinson, Alzheimer hastalığı ve multipl sklerozun patogeneğinde rol oynayabildiği düşünülmektedir (71-73). Yine menenjitte artan NO üretiminin, bu şekilde nörolojik sekellere katkıda bulunduğu tahmin edilmektedir (74). iNOS başta makrofajlar (monosit, histiyosit, Kupffer hücreleri vs.) olmak üzere polimorfonükleer lökositler (PMNL), hepatositler, damar düz kasları, damar endoteli, astrosit ve kondrositler tarafından üretilir. Enzim indüklendiği zaman NO üretimi, yapısal formdaki gibi kısa sürmez, saatlerce hatta günlerce devam edebilir. Özellikle non spesifik immünitede önemli rol oynar. Bakteri, mantar, virüs ve tümör hücreleri ile protozoonlara sitotoksik veya sitostatik etki oluşturur. İnflamatuvar ve otoimmün hastalıklarda (transplantın reddi, artrit, multipl sklerozis, astma vb.) rol oynadığı bildirilmiştir. iNOS hücrenin genel yapısında mevcut değildir. Ancak hücrenin bakteriyel ürünler ve sitokinler ile temasını takiben, birçok hücre tipinde üretimi uyarılır. Bu uyarılma transkripsiyonel indüksiyon (enzimi sentezleyen mRNA'nın artışı) yoluyla olmaktadır (12, 62).

İlk olarak bulunan **nNOS** esas olarak santral sinir sisteminde ve periferik nitrejik sinirlerde bulunmaktadır. nNOS, merkezi sinir sisteminde nörotransmitter/nöromodülatör olarak görev yapmaktadır. Bilinen en düşük molekül ağırlıklı organik nörotransmitterdir. Presnaptik uçtan salgılanan glutamatın etkisiyle (glutamat NMDA reseptörlerine bağlanır), postsnaptik uçtaki hücrenin NOS'u aktive edilir ve oluşan NO hedeflenen etkisini gerçekleştirir. Sinapsların şekillenmesine yardımcı olur. Koku alma, görme, ağrıyı algılama ve hafıza oluşması işlevlerinde rol oynar. Solunum fonksiyonlarında, penil ereksiyonda, gastrointestinal sistem

motilitesinde, mesane sfinkter işlevinde ve tüm dokuların kan basınç ve akış hızının düzenlenmesinde rol oynar (62).

#### **2.4. NO ve Migren İlişkisi**

Bugün için NO'nun vücutta bilinen birçok etkisi vardır. NO, perivasküler sinir sonlarında kalsitonin gen ilişkili peptid (CRGP) salınımına yol açar. Bu nedenle nörojenik vazodilatasyonda ve nörojenik inflamatuarda önemli rolü bulunmaktadır. NO trombosit fonksiyonuna katkıda bulunur. Fazla miktarda üretildiğinde nonspesifik immünitede ve nörotoksisitedeki etkisi gösterilmiştir (75, 76). Merkezi sinir sisteminde ağrı iletimi için gerekli olan nörotransmisyonunda NO aracılık eder. İnsanlarda subkutan NO enjeksiyonu kısa bir yanıcı ağrı oluşturmakla birlikte, hayvan çalışmaları NO ve sGMP artışlarının periferde, özellikle inflamasyonlu dokularda antinörojenik mekanizma içinde yer aldığını öne sürmüştür. Spinal düzeyde NO oluşumunun akut nörojenik dilatasyona katkısı çok az olmasına karşın yangı, sinir hasarı ve C liflerinin yoğun aktivasyonundan sonra görülen spinal duyarlılık artışı veya hiperaljezide NO önemli bir aracı maddedir (78).

Migren patogeneğinde NO'nun rolü olduğu düşünülmekte ve buna yönelik çalışmalar yapılmaktadır. Serebral arterlerin endotelyumundan oluşan NO'nun, migrende anahtar bir molekül olduğu ve migren ataklarını başlatabileceği ileri sürülmektedir (7, 11, 18). NO-sGMP yolağının aktivasyonu, vasküler dilatasyona neden olmaktadır. Migren atakları sırasında meydana gelen intra ve ekstrakraniyal dilatasyon, serebral kan akımını değiştirmektedir (11). Akut migren atağı sırasında, ağrının olduğu tarafta orta serebral arterde küçük bir dilatasyon gözlenmiştir (16, 78). Güçlü bir vazodilatör olan ve intrakraniyal arterlerin etrafında bulunan nonadrenerjik nonkolinerjik perivasküler sistemden (NANC) elde edilen NO, serebral arterlerin nörojenik dilatasyonunda önemli bir mediyatördür (15, 17). Bütün bunlar NO'nun migrende etkili bir molekül olduğunu göstermektedir. Migren ataklarında rolü olduğu düşünülen NO'nun bu etkisi başka çalışmalarla desteklenmiştir. Ekzojen NO donörü olan gliseril trinitratın ve vasküler endotelyumdan NO oluşmasını sağlayan histaminin, migren ataklarını tetiklediği gözlenmiştir (7, 12, 13). GTN ve histaminin sebep olduğu migrenin mediyatörünün NO olabileceği ve NO'nun migren atağının sadece

başlangıcında değil tamamında rol oynayabileceği düşünülmüştür (18).

NO'nun migrenle ilgili başka bir mekanizması, perivasküler duyuşal sinir liflerinin direkt aktivasyonu veya perivasküler nörojenik inflamasyonun başlamasıdır (8, 18). Bu da NO'nun hiperaljezide ve ağrının uyarılmasının santral yolunda önemli role sahip olduğunu göstermektedir (19). SSS'de ağrının iletimi için gerekli olan nörotransmisyonunda NO'nun aracılık ettiği düşünülmektedir. NOS'un beynin bütün bölgelerinde bulunması, NO'nun nosiseptif veya antinosiseptif yanıtlarla beraber nörotransmisyonunda rol oynadığını göstermektedir (79). Nitrogliserin infüzyonunun migrenlilerde, gerilim tipi baş ağrısı olan hastalarda ve normal bireylerdeki etkileri araştırılmış ve 0,015µg/kg/dak üstündeki dozlarda baş ağrısı oluştuğu ve oluşan baş ağrısı şiddetinin migrenli hastalarda diğer gruplara göre çok daha fazla olduğu tespit edilmiştir (7). Mashimo ve arkadaşları (10) yaptıkları çalışmada nitrogliserin ile oluşan baş ağrısının nedenini NO'nun kan damarları üzerindeki etkisinden bağımsız olarak nosiseptörleri direkt uyarması hipotezi ile açıklarken, bir başka çalışma migrenli hastalara ekzojen NO kaynağı olan nitrogliserinin intravenöz infüzyon ile verilmesini takiben gelişen ataklardan orta serebral arterde gelişen vazodilatasyonu sorumlu tutmuştur (20). Bu da NO'nun migren üzerindeki etkisinin hem kan damarlarını genişleterek hem de nosiseptörleri direkt etkileyerek olabileceğini göstermektedir.

## **2.5. Polimorfizmin Tarifi ve Tıpta Kullanım Alanları**

Bir toplumda sadece tekrarlayan mutasyonlarla sürdürülemeyecek oranlarda varolan, nadir sıklıktaki, devamlılık göstermeyen iki veya daha fazla genetik özelliğin birlikte oluşumuna polimorfizm denilmektedir. Eğer toplumun %1 veya daha fazlası nadir bir alleli taşıyorsa bu durum polimorfiktir. Polimorfizm tanımına uygun bir allel sıklığına ulaşmaya seleksiyon neden olabilir. İnsanda polimorfik olan genetik özelliklere örnek olarak, Y kromozomu heterokromatin boyutu, kan grupları, HLA, RFLP ve VNTR verilebilir. Aynı genin değişik biçimleri alleller olarak adlandırılır. Aralarındaki değişim (varyasyon) spesifik gene ve diğer birçok etkene bağılı olarak açık bir fenotipik etkiye sahip değildir veya önemli bir olayla sonuçlanmaz. Eğer bir değişiklik (varyant)

çok küçük bir fenotipik etkiye sahipse buna polimorfizm denir. Enzim ve protein değişkenlikleri ile ilgili araştırmalar, insandaki yapısal gen lokuslarının en az %30'unun polimorfik olduğunu göstermiştir (80).

Dengeli ve geçici polimorfizmler arasındaki ayırımın yapılması önemlidir. Dengeli polimorfizmde iki veya daha fazla farklı allelik yapılar ‐heterozigot üstünlüğü‐ ve ‐etkilenmiş homozigotun uyum azalması‐ arasında bir dengede korunur. Sıtmanın endemik olduğu bölgelerde orak hücre anemisi allel sıklığının yüksek olması dengeli polimorfizme iyi bir örnektir. Böylece sıtmaya maruz kalmayan topluluklarda orak hücre anemisi allelinin sıklığı azalmaya meyil gösterir. Bu gibi durumlarda ise polimorfizm geçici olarak adlandırılır. SNP'ler genomda özgöl bir bölgedeki tek bir bazda meydana gelen değişiklidir. Çoğunlukla her iki allelde de meydana gelir. İnsanlarda her 1000 bazda bir görölme sıklığı vardır. Bugüne kadar insan genomunda milyonlarca SNP bulunmuş olması, hem doğal hem de hastalık fenotiplerine katkıda bulunan genetik etkenlerin tanımlanması açısından çok önemlidir.

Polimorfizmler insan genetik araştırmalarında anahtar bir işlev üstlenmiştir. Bir genin farklı kalıtım kalıplarının öngörülebilmesi veya genomun farklı segmentlerinin birbirinden ayırt edilebilmesi önemli bir konudur. Bu açıdan řu anda DNA polimorfizm çalışmalarında ve bulunan polimorfizm sayısında bir patlama yaşanmaktadır. Polimorfizm bu bakımdan bir genetik işaretleyici gibi görev yapmaktadır. Bu açıdan řu alanlarda kullanıma girmiştir; ebeveynlik testi, suçluların tanımlanması, organ nakilleri için doku tiplemesi, yetişkin bireylerin diyabet ve kanser gibi toplumda sık görölün hastalıklara yatkınlıklarının düşük veya yüksek risk tarzında belirlenmesi, genetik hastalıklarının heterozigot taşıyıcılarının tespiti, bir kromozomun özel bir bölgesindeki bir genin bağlantı analizi ile haritalanması (81, 82).

## **2.6. GENETİK POLİMORFİZM VE ÇEŞİTLERİ**

DNA yapısında, zararsız kalıtsal varyasyonlar belirlenmiştir. Yani, bir bireyin genomu her 200-300 nükleotidde 1-2 baz değişimi içermekte, fakat bu durum kişilerde önemli bir hastalığa neden olmamaktadır. İnsan genomundaki bu değişikliklere DNA polimorfizmi denir. Polimorfizm örnekleri, çoğu kez intron, yani genin proteine

çevrilmeyen bölgelerinde yer almaktadır. Ancak, bu değişim bazen hastalığa neden olan bir genin içinde veya çok yakınında da yer alabilir. Bu durumda, polimorfizmin kalıtımı bize hastalığın tanısı için yardımcı olur.

İnsan genomunda yer alan DNA polimorfizm örnekleri genel olarak üç grupta incelenir (83).

- 1 Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi (Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP)
- 2 Değişken sayıda ardışık dizi polimorfizmi  
(Variable Number of Tandem Repeats Polymorphism, VNTR)
- 3 Basit dizi tekrarları (Simple Sequence Repeats , SSR)

### **1- Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP)**

DNA sarmalı üzerinde, özgül restriksiyon endonükleaz enzimleri (Restriction Endonuclease, RE) ile tanınan belli polimorfik bölgeler vardır. RE ile muamele edildiği zaman bu bölgeler kesilir ve farklı uzunlukta diziler oluşur. Bu diziler, RFLP olarak adlandırılır. Bu diziler, birçok hastalıkta kalıtsal marker olarak kullanılırlar. Eğer, DNA yapısında tek nükleotidlik bir değişim incelenmek isteniyorsa, o bölgeye spesifik bir RE kullanılır ve birbirinden farklı alleller tespit edilir. İnsersiyon ve delesyon sonucu oluşan polimorfizmler ise iki allele sahip oldukları için birçok enzimle tanımlanabilirler (84).

### **2- Değişken Sayıda Ardışık Dizi Polimorfizmi (Variable Number of Tandem Repeats Polymorphism, VNTR)**

DNA üzerinde ardışık tekrar eden diziler içinde yer alan, 30-60 bp'lik kısa dizilerdir. Bu polimorfizm örnekleri tekrarlayan dizilerden oluşan varyasyonlarla ortaya çıkar. Allel sayısı çok geniş olup, birçok RE tarafından tanımlanabilir. VNTR, RE tarafından kesilmeden, sadece polimeraz zincir reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction, PCR) ile tespit edilebilmektedir. Tekrar sayısına göre değerlendirme yapılır (83).

## **2- Basit Dizi Tekrarları (Simple Sequence Repeats, SSR)**

DNA molekülünde yer alan bu basit dizi tekrarları çok küçük diziler olduğundan, yalnızca PCR analizi ile tanımlanabilir. SSR örnekleri basit diziler içinde yer alan tekrarlar olması nedeni ile polimorfik yapıya sahiptir (83).

### **2.7. Migrenin Polimorfizmleri**

Migren hastalığı ile santral sinir sisteminde rolü olan çeşitli nöromediyatörler, reseptörler ve enzimlere ait genetik polimorfizmlerin ilişkisinin araştırıldığı çeşitli çalışmalar yapılmıştır (Tablo 11) (21, 22, 85-127).

**Tablo 11.** Migren Polimorfizmleri

<b>POLİMORFİZM</b>	<b>REFERANS</b>
nNOS geni	22
eNOS geni	21, 85
iNOS geni	86
5-HT2A reseptör geni T102C, 5-HT1A, 5-HT1A C1019C, 5-HT1B G861C, 5-HT1B/1D, 5-HT2C	87-91
SERT geni VNTR	92- 95
SERT geni 5-HTTLPR	89, 96-100, 92-94
SERT SLC6A4 promoter bölge	101
COMT geni	102
COMT geni Val158Met	103
MTHFR genindeki C677T	104-109
MTHFR genindeki A1298C	106
Dopamin beta hidroksilaz (DBH), Dopamin transporter gen (DAT)	110, 111
Dopamin reseptör gen (DRD2, DRD3, DRD4)	111-115
DRD4 exon 3 VNTR	116
DRD2 -141C Ins/Del	117
DBH geni 19bp delesyon	118
Glutatiyon S-transferaz (GST) geni P1 Ile(105)Val, T1 ve M1	119
GST M1	120
Sitokrom P450 2D6 (CYP2D6)	120
İL-6 (interlökin 6) geni	121
TNFB1, TNFB2	122
TNF $\alpha$ G-308A promoter bölge	123, 124
MAO-A promotor bölge	125
Adenosin A2A reseptör geni	126
Limfotoksin-a promoter bölge	127

## 2.8. nNOS Gen Polimorfizmleri

**Tablo 12.** nNOS Gen Polimorfizmleri ve İlişkisi Olduğu Düşünülen Hastalıklar.

<b>Polimorfizm</b>	<b>İlişkili olabilecek hastalıklar</b>	<b>İlişkisi</b>	<b>Literatür</b>
Exon 29'da CA tekrar polimorfizmi	Astım	Var	128
	Şizofreni	Yok	129
Exon 29'da C5266T tek nükleotid polimorfizmi	Astım	Yok	130
Exon 29'da C276T polimorfizmi	Alzheimer	Var	131
	Tardif diskinezi	Yok	132
	Bipolar bozukluk	Yok	133
İntron 20 AAT tekrar polimorfizmi	Kistik fibroz	Var	134, 135
	Astım	Yok	130
5'-flanking bölge polimorfizmi	Parkinson	Var	136
Promoter bölgede dinükleotid polimorfizmi	Multipl skleroz	Yok	137
Exon 1c promoter bölge tek nükleotid polimorfizmi	Hipertrofik pilorik stenoz	Var	138
TG tekrar polimorfizmi	Esansiyal hipertansiyon	Yok	139

## 2.9. POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU TEKNİĞİ (PCR)

Kary Mullis, R.Saiki ve arkadaşları tarafından geliştirilen ve onlara NOBEL ödülü kazandıran PCR tekniği, ilk olarak orak hücre anemisinin tespitinde kullanılmıştır. Nükleik asitlerin in vitro çoğaltılmasını sağlayan bir yöntemdir (140). Hücre içinde gerçekleşen DNA replikasyonu, PCR ile tüp içinde gerçekleştirilmektedir. PCR, birkaç molekül DNA'dan 10 milyondan fazla kopya oluşumunu sağlayan bir metottur. PCR, DNA klonlamasını kolaylaştırarak, rekombinant DNA araştırmalarının temelini oluşturmuş ve pek çok durumda, konakçı hücrelerin kullandığı klonlamanın yerini almıştır. PCR, hedef DNA dizilerinin, doğrudan çoğaltılmasına dayanır ve bu yöntemin uygulanabilmesi için yok denecek kadar az miktarda DNA yeterlidir (84).

### 2.9.1. PCR Reaksiyonu İçeriği

**Hedef DNA (Template DNA):** PCR reaksiyonun en temel bileşenidir. İstenen DNA bölgesi, hedef DNA'dan kopyalanarak çoğaltılmaya başlanır. Kullanılacak hedef DNA; genomik DNA, faj DNA'sı veya plazmid DNA'sı olabilir. Toplam reaksiyon karışımı 100 µl ise hedef DNA, plazmid veya faj için 0,01-1 ng kadar alınır. Eğer genomik DNA kullanılacaksa, bu oran 0,1-1 µg olarak belirlenmiştir. Çok fazla DNA, ortamda non-spesifik ürünlerin miktarını artırır. Fakat, sentezin doğruluğu çok önemlidir. DNA kalitesinin artması, doğru DNA ürününün artışı sağlamaktadır (83, 149).

**Primerler (Oligonükleotidler):** DNA polimeraz enzimleri, hedef DNA üzerinde polimerizasyon reaksiyonunu başlatabilmek için çoğaltılacak bölgenin iki ucundaki dizilere komplementer olan primerlere ihtiyaç duyar. PCR primerleri genellikle 18-25 nükleotid uzunluğundadır. GC nükleotidlerinin tüm primerdeki oranı yaklaşık % 40-60 civarında olmalıdır. Primerlerin 3' ucunda üçten fazla deoksiguanozin trifosfat (dGTP) ve deoksisitozin trifosfat (dCTP) bulunursa, non-spesifik ürünler oluşabilir. Primer, reaksiyon karışımında kendine komplementer veya bir başka primere komplementer olmamalıdır. Aksi halde yanlış bağlanma konformasyonları oluşabilir (84, 140, 141).

**Magnezyum Klorür (MgCl<sub>2</sub>) Konsantrasyonu:** Mg<sup>+2</sup> iyonları, deoksiribonükleotid trifosfatlar (dNTP) ile çözünebilir kompleksler oluştururlar ve polimeraz aktivitesini arttırıcı yönde etki ederler (141). Ayrıca primer yapışmasını, hem kalıp hem de PCR ürününün zincir ayrışma sıcaklıklarını, ürün özgüllüğünü etkilemektedir. Standart olası MgCl<sub>2</sub> konsantrasyonu 1-4 mM'dır. Fazla Mg<sup>+2</sup> iyonları, PCR ürünlerini azaltır ve non-spesifik ürünlerin oluşumunu sağlar. Eğer DNA örneği, etilendimetil tetra asetik asit (EDTA) içeriyorsa ortamdaki MgCl<sub>2</sub> konsantrasyonu arttırılır (83, 84, 141).

**Deoksiribonükleotid Trifosfatlar (dNTP):** Deoksiribonükleotid trifosfatlar (dNTP; dATP, dGTP, dTTP, dCTP) yüksek saflıkta ya tek tek ya da dörtlü karışım halinde (dNTP mix) hazırlanmıştır. Taq DNA polimeraz, düşük dNTP konsantrasyonlarında kalıba uygun doğru bazları seçmede daha başarılı olmaktadır. Reaksiyon karışımındaki her bir dNTP konsantrasyonu genellikle 200 µM'dır. Ayrıca, her bir dNTP'nin birbirine eşit konsantrasyonda olması, yanlış birleşmeleri engellemek açısından oldukça önemlidir. Düşük dNTP derişimleri, hedef olmayan bölgelerde hatalı kullanımı en aza düşürür ve hatalı birleşmiş nükleotitlerin uzama olasılığını azaltır. Hedef dizinin bileşimi ve uzunluğu için uygun en düşük dNTP derişimine karar verilmelidir (83, 141).

**Taq DNA Polimeraz Enzimi:** PCR reaksiyonunda kullanılan ve 95 °C'ye kadar dayanıklı Taq DNA polimeraz enzimi, *Thermus aquaticus*'tan elde edilmektedir. Aynı zamanda, Taq DNA polimerazın değişik rekombinat tipleri de üretilmektedir. Taq DNA polimeraz 832 aminoasite sahip bir proteindir. PCR ile uygun şartlarda saniyede 75 nükleotid sentezlenebilmektedir. Taq DNA polimeraz enzimi ile polimerizasyon 5'→3' yönünde gerçekleşir (84). Genellikle, 100 µl reaksiyon karışımı için 2-3 ünite Taq DNA polimeraz kullanılmaktadır. Eğer, ortamda enzim inhibitörü maddeler varsa, Taq DNA polimeraz miktarının arttırılması gerekmektedir (83, 141).

**PCR Tamponu (PCR Buffer):** Genellikle kullanılan PCR tamponları, KCl, Tris ve MgCl<sub>2</sub> içermektedirler. Bunların genel bulunuş oranları; 500 mM KCl, 100 mM Tris-HCl (pH=8.3), 15 mM MgCl<sub>2</sub> şeklindedir. KCl'nin ortama konmasındaki amaç primerlerin yapışmasını kolaylaştırmaktır. Fakat fazla miktarda kullanılırsa, Taq DNA polimerazın etkisini engellemektedir (84, 141).

### 2.9.2. PCR Döngüleri ve Süreleri

PCR reaksiyonunda üç temel basamak vardır ve çoğaltılmış ürünün miktarı teorik olarak bu üç adımın tekrarlanma sayısına bağlıdır. Genel bir PCR analizi aşağıda verilen aşamalardan oluşur:

- 94 °C de 2 dak.....İlk denatürasyon
- 94 °C de 30-45 sn.....Denatürasyon
- 50-70 °C de 30-45 sn.....Primer bağlanması (Annealing)
- 72 °C de 45-60 sn.....Sentez (Extension)
- 72 °C de 7 dak.....Yarım kalan zincirlerin sentezi

Bu sıcaklıklar ve sıcaklık süreleri farklı gen bölgelerinin çoğaltılmasında değişiklik göstermektedir.

1 **Denatürasyon** : Hedef DNA'nın yüksek sıcaklıkta, hidrojen bağlarının kopması ve ayrışması aşamasıdır. DNA'nın daha iyi çözünmesini sağlamak için ilk denatürasyon aşaması oldukça önemlidir. Genellikle bu aşama dGTP ve dCTP oranı %50'den az olduğu koşullarda, 95<sup>0</sup>C'de 2-3 dakikada gerçekleşmektedir. dGTP, dCTP oranı, yüksek olduğu zaman, denatürasyon aşaması daha uzun sürer.

Bu aşamadan sonra ise, yaklaşık 30-35 döngü devam eden; denatürasyon, bağlanma (annealing), sentez (extension) aşamaları belirli sürelerde sırasıyla tekrarlanır.

2 **Bağlanma (Annealing):** Primerlerin uygun sıcaklıkta hedef DNA'ya bağlanması aşamasıdır. Ortam sıcaklığı, 50-70 °C arasında bir değere düşürülür ve primerlerin tek zincirli DNA'ya bağlanması sağlanır. Bu aşama, genellikle 30-90 saniye kadar

sürmektedir. Primerler, hedef DNA'nın kopyalanması için, başlangıç noktası olarak görev yaparlar.

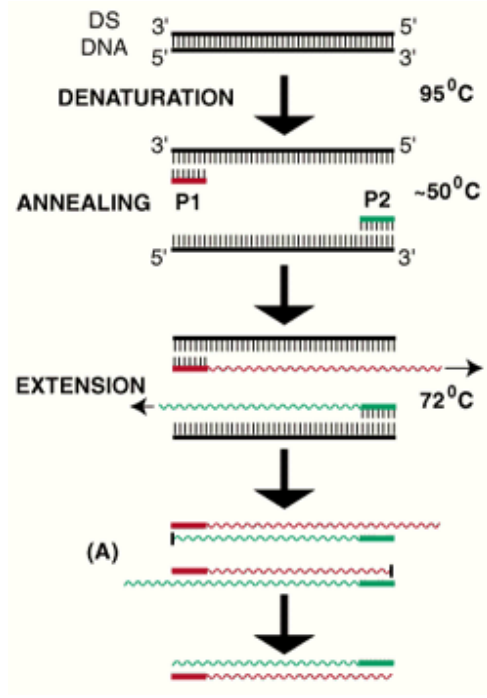
**3 Sentez (Extension):** Bu aşamada, Taq DNA polimeraz enzimi 5'→3' yönüne doğru dNTP'leri ekleyerek, primerlerin uzamasını sağlar ve hedef DNA'nın iki zincirli kopyası oluşturulur. Genellikle 70-75 °C sıcaklıkta gerçekleşen sentez aşamasında 1 dakikada yaklaşık 2 kb DNA bölgesi sentezlenmektedir.

Yaklaşık 30-35 döngü gerçekleşen denatürasyon, bağlanma ve sentez aşamalarından sonra son sentez aşaması, yaklaşık 5-10 dakika sürer ve bir döngü gerçekleşir. Son sentez aşamasında da yarım kalan zincirlerin sentezi sağlanır.

**4 Döngü Sayısı:** PCR döngü sayısı, karışımdaki DNA miktarına ve beklenen PCR ürününe bağlıdır. PCR'da 40'dan fazla döngü olmamalıdır. Uygun olan, PCR'ın 25-35 döngü arasında gerçekleşmesidir. Aksi takdirde istenmeyen ürünler oluşur ve ürün kalitesi düşer (Şekil 1) (142).

### **2.9.3. PCR'ın Kullanım Alanları**

PCR, 10 yıldan biraz fazla bir zaman önce geliştirilmesine rağmen genetik ve moleküler biyolojide en çok kullanılan teknik olmuştur. Klonlamada kullanılmasının yanı sıra, genetik marker olarak kullanılan, DNA tekrar dizilerindeki farklılıkların belirlenmesinde kullanılır. Ayrıca, gene özgü primerler kullanılarak, mutasyonların yerinin ve tipinin belirlenmesinde de kullanılır. PCR, adli tıpta suçlu tespiti için elde edilen saç teli gibi çok az miktardaki DNA'nın bile çoğaltılarak üzerinde çalışılmasına olanak sağlamaktadır. Ayrıca, babalık testinde de spesifik gen bölgelerinin çoğaltılarak karşılaştırılmasında kullanılır. Kısaca çok geniş bir kullanım alanı olan PCR, son yılların en önemli buluşları arasındadır.



**Sekil 1.** PCR reaksiyonu; denatürasyon, bağlanma (annealing) ve sentez (extension) aşamaları

## 2.10. ELEKTROFOREZ TEKNİĞİ

Elektroforez, yüklü moleküllerin bir elektriksel alan uygulandığında, sıvı içerisinde bir ortamda hareket hızlarının belirlendiği bir yöntemdir. Temelde elektriksel alanda çözülmüş durumdaki moleküllerin, elektrik yüklerinin kütlelerine oranıyla belirlenen hızda göç etmeleri prensibine dayanmaktadır. Nükleik asitlerin ve proteinlerin çeşitli tiplerini ayırmakta genellikle, agaroz jel elektroforezinden faydalanılır. Agaroz jel elektroforezi, saflaştırılmış nükleik asit ve proteinlerin molekül ağırlığı, miktarı ve alt tiplerinin saptanmasında geniş ölçüde kullanılmaktadır. Yani, molekülün dış yüzeyinde (+) yük varsa molekül katoda doğru, (-) yük varsa molekül anoda doğru hareket eder. Proteinler izoelektrik noktalarının üzerindeki pH değerlerinde (-) yüklüdürler anoda doğru göç ederler; izoelektrik noktalarının altındaki pH değerlerinde ise (+) yüklüdürler ve katoda doğru göç ederler. Bu olay, belirli bir yük dağılımı olan tampon içerisinde gerçekleşmektedir. Yüklerin elektrik akımıyla göç etmesine dayalı bu yöntem, 'elektroforez' adı verilmektedir. Elektroforezler, uygulama

alanları ve ayırma ortamları bakımından farklılık gösterirler.

Ayırma ortamı olarak genellikle, kağıt, selüloz asetat, nişasta, agaroz ve poliakrilamid kullanılır. Uygulama alanları ise çeşitli serum proteinleri, zar proteinleri, sitoplazmik proteinler, enzimler ve nükleik asit gibi makromoleküllerdir. Son yıllarda, polisakkarit ve yağların da elektroforez teknikleri kullanılarak, moleküler büyüklüklerine göre analizleri yapılmaya başlanmıştır.

Nişasta elektroforezi, sadece enzim analizi için yapılır. Agar ve agaroz elektroforezi ağırlıklı olarak, nükleik asit ve protein analizi için kullanılır. Kağıt ve nitroselüloz elektroforezi ise, protein analizi için yapılır. Poliakrilamid jeller ise çoğunlukla proteinler ve nükleik asitler için kullanılır.

Protein analizi açısından en fazla tercih edilen yöntem iki boyutlu immuno elektroforezdir. Bu olayda, antijen antikor arasındaki etkileşime bakılarak oluşan antikorun miktarı ve türü ortaya çıkarılabilir. Agaroz jel elektroforezi, nükleik asit ve proteinlerin ayrışmasında kullanılır. Küçük moleküller, büyük moleküllere oranla daha hızlı göç ederler. Jel yapısındaki gözenekler, küçük moleküllerin hareketine, büyük moleküllere oranla daha fazla olanak sağlar. Elektroforez tamamlandıktan sonra, çeşitli büyüklükteki molekülleri temsil eden bantlar, ya otoradyografi ile ya da nükleik asitlere bağlanan floresan bir boyayla görüntülenir.

RNA ve denatüre DNA'nın moleküler ağırlığı olmayan serbest solüsyonda elektroforetik olarak hareket ettiği bilinmektedir. Ayrıntılı çalışmalar elektroforez metodunun molekülün birkaç parametresi üzerine bilgi verebildiğini saptamıştır. Bunlar; moleküler ağırlığı hakkında bilgi vermekte, hem RNA hem DNA nükleotidlerinin boyutlarının belirlenmesini sağlamakta, tek ya da çift zincirleri tanımlayabilmektedir. Her ne kadar birçok kimyasal metod ile yukarıdaki olaylar tanımlanabilse de elektroforezle kesin sonuç alınmaktadır. Basit olması aparatlarının ucuz olması ve çok küçük materyal parçaları ile çalışılabilmesi bu tekniğin üstün tarafıdır.

Agaroz jel elektroforezinde DNA incelemelerinde tampon olarak en çok 1xTBE (Tris-Borak Asit-EDTA) tamponu kullanılmaktadır. TBE solüsyonu 10xTBE stok solüsyonu olarak hazırlanır. Distile suyla seyreltilerek kullanılır. Elektroforez tankına agaroz jelin üzerini kaplayacak kadar konulan 1xTBE solüsyonuna ethidium bromid (EtBr) solüsyonu eklenir. DNA'nın görünür hale gelebilmesi EtBr'nin DNA bağları

arasına bağlanarak 300 veya 360 nm'de ışığı absorblaması sonucu floresans etki göstermesi ile olur. Bu etki DNA konsantrasyonuna bağlı olarak kuvvetli veya zayıf olabilir.

Jelin hazırlanmasında agaroz, 1xTBE, EtBr kullanılır. Jeli donduracağımız kabın büyüklüğüne, kullanılan tarakların derinliğine göre yeterli miktarda 1xTBE solüsyonu behere aktarılır. İçerisine jelde ayrımı yapılacak nükleik asidin boyutlarına uygun yüzdede agaroz (Ör: % 2 ise 2.8 g agaroz) konur, 1xTBE içinde mikrodalga fırını içerisinde çözünür. Çözelti homojen görünüme gelince magnetik karıştırıcı üzerinde karıştırarak soğutulur. Soğuma sırasında solüsyona EtBr eklenir. Yeterli miktarda soğuyan karışım (tarakları eritmeyecek, beherde donmayacak kadar) tarakları uygun şekilde yerleştirilmiş jel dökme tankına aktarılır. Oda sıcaklığında donar. Donduktan sonra dikkatlice taraklar çıkarılır, jel kesilip elektroforez tankına aktarılır. Elektroforez yapılacak ürün içerisine Orange-G eklenir. Bu, yükleme sırasında ürünün yoğunluğunu artırarak çukurlara kolay inmesini ve jel üzerine boyanın ilerleyişinin gözle izlenebilmesini sağlar. Orange-G eklenmiş üründen alınarak çukurlara aktarılır. Aynı şekilde DNA marker da bir çukura yüklenir. Jele fazla miktarda DNA yüklenmesi sonucunda kenar ve hız etkisi ile jelde yanlış yorumlamalara yol açabilecek görüntüler ortaya çıkabilir. Örneğin; eğer fazla DNA yüklenirse keskin bir bant yerine yaygın bir görünüş elde edilir. Jel 120 V akım altında kontrollü bir şekilde (fazla tutulursa ürün jelden akabilir) elektroforezi yapılır. Görüntüleme cihazında U.V. altında görüntülenir (143).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

#### 3.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Toplanması

Bu çalışmada, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Nöroloji Polikliniğine başvuran, klinik olarak migren tanısı konan 120 birey alınarak hasta grubu oluşturuldu. Ayrıca, 185 sağlıklı birey alınarak, kontrol grubu oluşturuldu. Yaş ve cins açısından benzer olan hasta ve kontrol grubundaki bireylerden DNA izolasyonu için 7-8 ml venöz kan, 1 ml % 2'lik etilendimetil tetra asetik asitli (EDTA) içeren, 15 ml'lik santrifüj tüplerine konuldu. DNA izolasyonuna kadar -20 °C de saklandı. Bu kanlardan tuz çöktürme yöntemiyle DNA izolasyonu yapıldı.

#### 3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

##### 3.2.1. Aletler ve Cihazlar

- 1 Termal Cycler (Techne Progene, Cambridge, İngiltere)
- 2 Elektroforez Tankı (EC Midicell EC 350, 20x20cm)
- 3 Elektroforez Güç Kaynağı (EC 135-90)
- 4 Jel Görüntüleme Sistemi (Vilber Lourmat Marne La Vallée, Fransa)
- 5 Manyetik Karıştırıcı (Nüve MK 418)
- 6 Mikrodalga Fırın (Alaska)
- 7 Hassas Terazî (AND GR-200)
- 8 Mikrosantrifüj (Hermle, Z160M)
- 9 Vorteks (VELP)
- 10 Santrifüj (Nüve NF 800)
- 11 Mikropipet Seti (Eppendorf)
- 12 Derin Dondurucu (Arçelik-2031 D)
- 13 Etüv (Nüve EN-500)
- 14 Otoklav (Nüve OT 4060 V)
- 15 Buzdolabı (Arçelik 8188 NF)

### 3.2.2. Kimyasal Maddeler

- 1 Na<sub>2</sub>EDTA (Sigma E-5134)
- 2 Sodyum Perklorat (Sigma S-3546)
- 3 Sodyum Dodesil Sülfat, SDS (Sigma L-5750)
- 4 Sodyum Klorür (Riedel-de Haen)
- 5 Etanol (Riedel-de Haen 32221)
- 6 Parafilm M (Sigma, P-7793)
- 7 Taq DNA Polimeraz (MBI Fermentas, EP0402)
- 8 Bidistile Su (Sigma W-3500)
- 9 2 mM dNTP Mix (MBI Fermentas, #R0241)
- 10 Eco72I (Restriksiyon Enzimi)
- 11 10X PCR Buffer with (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (MBI Fermentas #B33)
- 12 25 mM MgCl<sub>2</sub> (MBI Fermentas)
- 13 Proteinaz-K (Sigma P-2308)
- 14 Primerler

*Forward* 5' ACTCCTTGAGTTTTTCCTGCTGCGA 3'

*Reverse* 5' CCATGTTCCAGTGGTTTCATGCACAC 3'

- 15 Tris-Hidroklorid (Sigma T-7149)
- 16 Trizma Base (Sigma T-6066)
- 17 Borik Asit (Carlo Erba 302177)
- 18 Ethidium Bromid (Sigma E-1510)
- 19 Gliserol (Merck 4091)
- 20 Agaroz (Prona agarose plus, E.U)
- 21 Orange G (Sigma O-3756)
- 22 100 bp DNA ladder GeneRuler marker (MBI, SM 0241)
- 23 100 bp – 1,5 kb DNA ladder (MSM34/MSM35)

### 3.2.3. Çözeltiler

#### 1 Nuklei Lizis Tamponu

Tris-HCl.....1.576 g

NaCl.....23.4 g

Na<sub>2</sub>EDTA.....0.7 g

1 litre distile suya tamamlanıp çözüldükten sonra, otoklavda sterillendi ve +4 °C'de saklandı.

#### 2 TE (Tris-HCl) Tamponu

Tris-HCl.....0.394 g

Na<sub>2</sub>EDTA.....0.093 g

250 ml distile suya tamamlanıp çözüldükten sonra, otoklavda sterillendi ve +4 °C'de saklandı.

#### 3 10XTBE (Tris-Borat-EDTA) Tamponu

Trizma Base.....108 g

Borik asit .....54.8 g

EDTA.....5.44 g

Distile su ile 1 litreye tamamlanarak çözüldü.

#### 4 Orange G Çözeltisi

Na<sub>2</sub>EDTA.....2,232 g

Orange G.....200 mg

60 ml Gliserol ve 40 ml distile sudan oluşan solüsyon içerisinde çözüldü.

**5 Elektroforez Yürütme Tamponu**

10X TBE tamponundan distile su ile seyreltilerek hazırlanmış olan 1X TBE içerisine 0.5µg/ml konsantrasyonunda olacak şekilde EtBr konularak hazırlandı.

**6 % 3'lük Agaroz Jel Solüsyonu**

140 ml 1X TBE tamponu içerisinde 4.2 g agaroz (Agarose plus) mikrodalga fırında eritildikten sonra 0.5 µg/ml konsantrasyonunda olacak şekilde EtBr eklenerek, hazırlandı.

**7 10 mg/ml Proteinaz K Çözeltisi**

100 mg Proteinaz K, 10 ml steril distile su ile çözülerek hazırlandı ve – 20 °C'de saklandı.

**8 5M Sodyum Perklorat Solüsyonu**

61.2 g sodyum perklorat (NaClO<sub>4</sub>) 1 litreye distile suyla tamamlanıp, çözüldükten sonra otoklavda sterilendi ve + 4 °C'de saklandı.

**9 % 10 SDS Solüsyonu**

10 g SDS 100 ml distile suda çözüldü.

## 10 6 M NaCl Solüsyonu

35,5 g NaCl 100 ml distile suda çözüldü.

### 3.3. DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu tuz çöktürme yöntemine göre elde edildi. Yöntemin esası, lökositlerde bulunan DNA dışındaki tüm yapıların bozularak parçalanması, yoğun bir tuz çözeltisi ile çöktürülmesi ve üstte kalan sıvı kısımda bulunan DNA'nın etil alkol yardımı ile yoğunlaşması sağlanarak izole edilmesidir (87).

#### 3.3.1. DNA İzolasyonunun Yapılışı

DNA izolasyonu işlemi iki gün sürmektedir. Bu işlemin ilk aşamasında; kanların bulunduğu tüpler soğuk steril distile su ile 14 ml'ye tamamlanıp kuvvetlice 1-1.5 dakika çalkalandıktan sonra 15 dakika 2000 rpm'de ilk santrifüj işlemi yapıldı. Tüplerde çökelmelerin başladığı bölgenin yakınına kadar olan süpernatant kısım, pastör pipetiyle alınarak atıldı. Çökeltinin üstüne steril soğuk distile su eklenerek hacmi tekrar 14 ml'ye tamamlandı. Tüm tüplerde bu işlem yapıldıktan sonra 10 dakika 2000 rpm'de ikinci santrifüj işlemi yapıldı. Tekrar süpernatant atılarak, çökelti üzerine steril soğuk distile su eklendi ve kuvvetlice çalkalandı. Çalkalama işlemi yapılırken tüpün dibinde çökelti kalmamasına dikkat edildi. Daha sonra tekrar su eklenerek 14 ml'ye tamamlandı ve santrifüj edildi. Bu işlemler süpernatantın rengi, şeffaf bir renge gelinceye kadar devam etti. Bu işlem yaklaşık 4-5 defa tekrarlandı.

Yıkama işlemi tamamlandıktan sonra, tüplere pipetle 3'er ml nuklei lizis buffer konulup çalkalandıktan sonra tüplerin her birine 200 µl SDS, 500 µl 5 M'lık sodyum perklorat ve 25 µl, 10 mg/ml'lik proteinaz-K konuldu. Kapaklar sıkıca kapatılıp tüplerin ağzı parafilm ile sarıldıktan sonra 37 °C'lik etüvde bir gece bekletildi.

İkinci gün, tüpler 37 °C'lik etüvden çıkarılıp çalkalanarak, 55 °C'lik inkübatöre konuldu. Bir saat geçtikten sonra her bir tüpe 2'şer ml doymuş NaCl<sub>2</sub> çözeltisi konuldu. Kapaklar kapatılıp tüpler hızlıca çalkalandıktan sonra 10 dakika bekletildi. Daha sonra

15 dakika 3500 rpm'de santrifüj edildi. Santrifüj işleminden sonra tüplerde bulunan süpernatantlar, boş santrifüj tüplerine aktarıldı. Üzerine soğuk, etanol eklenerek, çözülmüş haldeki DNA'nın yoğunlaşması sağlandı. Yoğunlaşan DNA'ların her biri, mikropipet yardımıyla, içerisinde 500 µl TE tamponu bulunan Eppendorf tüplerine aktarıldı. Eppendorf tüpleri, DNA'ların TE tamponu içerisinde çözünüp, homojen hale gelmesi için 37 °C'lik etüvde bir gece bekletildikten sonra + 4 °C'deki buzdolabına kaldırıldı.

Eğer, DNA aynı gün içinde elde edilmek isteniyorsa, önce ilk gün işlemleri yapılır ve 55 °C'de 3 saat bekletilir. Sonra, ikinci gün işlemleri yapılarak DNA elde edilir.

### 3.4. Moleküler Analiz

PCR, tek bir molekül DNA'yı dahi çoğaltabileceğinden, reaksiyon karışımlarının DNA molekülleri ile kontamine olmasının engellenmesi gerekmektedir. Bu kontaminasyon, daha önceki PCR reaksiyonu, ekzojen DNA veya diğer hücrel materyallerden kaynaklanıyor olabilir. Bu nedenle, kullanılan sarf malzemeleri ve solüsyonların steril olmasına dikkat edildi. Ayrıca PCR reaksiyonunda, ısı iletiminden kaynaklanabilecek sorunların en az düzeye indirilmesi için, ince duvarlı DNAase ve RNAase enzimlerinden arındırılmış steril 0,5 ml'lik PCR tüpleri (Axygen Thin-Walled PCR Tubes), reaksiyonun gerçekleştirilmesi için Thermal Cycler cihazı ve 0,5-10 µl'lik, 2-20 µl'lik ve 10-100 µl'lik otomatik pipetler kullanıldı.

nNOS gen bölgesinin amplifikasyonu için PCR yapıldı.

PCR reaksiyon karışımı yaklaşık 20 örnek için aşağıdaki gibi hazırlandı.

1	Bidistile su.....	340 µl
2	10 x PCR Buffer (NH <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ).....	50 µl
3	2 mM dNTP Mix.....	50 µl
4	Primer F.....	5 µl
5	Primer R.....	5 µl
6	MgCl <sub>2</sub> .....	30 µl
7	Taq DNA Polimeraz.....	3 µl
8	Hedef DNA.....	1 µl

Elde edilen karışım, 0,5 ml'lik ince çeperli eppendorf tüplere 20'şer µl konulduktan sonra Thermal Cycler'a konuldu. Termal Cycler'da; önce 1 döngü 2 dak. 95°C de ilk denatürasyon gerçekleştirildi. Sonra, 35 döngü; 2 dak. 95 °C'de denatürasyon, 1 dak. 57 °C'de bağlanma (annealing), 1,5 dak. 72 °C'de sentez (extension) aşamaları gerçekleştirildi. Son aşamada ise, 1 döngü 7 dak. 72 °C'de son sentez (final extension) aşaması gerçekleştirildi.

Tek nükleotid değişimi tespiti için RE enzimi kullanılarak işleme devam edildi. Bu işlem için Eco72I enziminden oluşan karışım hazırlandı. 20 örnek için; 190 µl bidistile su, 50 µl buffer Tango, 10 µl Eco72I'dan oluşan karışım hazırlandı. 10 µl PCR ürünü bulunan her bir tüpe, 12 µl hazırlanan RE enzim karışımından eklendi ve 1 gece 37 °C etüvde bekletilerek kesme işlemi gerçekleştirildi.

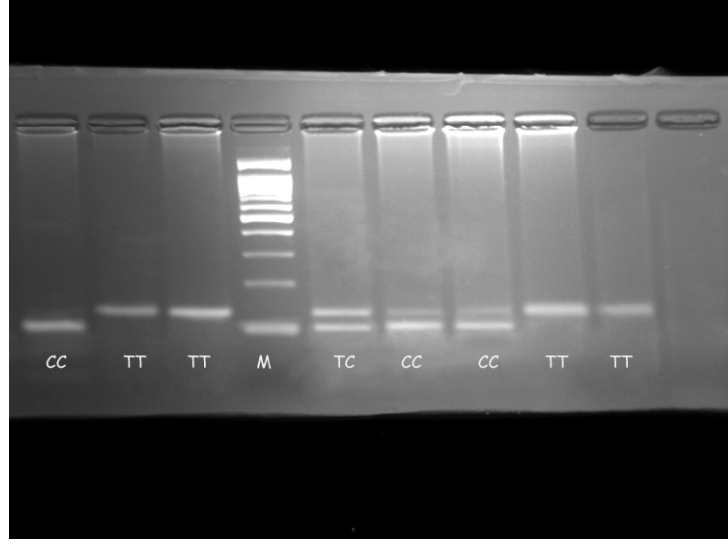
Kesme işlemi gerçekleştirildikten sonra, tüplerin her birine 10 µl orange G eklendi. Sonra, % 3'lük agaroz plus jel hazırlandı. Her bir tüpten 25-30 µl kadar alınarak jel kuyucuklarına yüklendi. Sonra 120 V elektrik akım uygulanarak elektroforez işlemi yapıldı.

Kesme işlemi sonucunda T alleleline sahip gen bölgeleri kesilmezken, C alleleline sahip gen bölgeleri kesildi. Genotipleme C alleli için 100 bp ve 28 bp; T alleli için 128 bp olarak yapıldı.

Jel elektroforez görüntüleme sistemi (Vilber Lourmat, Fransa) yardımı ile örneklerin jel elektroforez görüntüleri alındı ve fotoğraflandı (Şekil 2).

### **3.5. Kullanılan İstatistiksel Yöntemler**

Hasta ve kontrol grupları arasında genotip sıklıklarını değerlendirmede ve hastaların klinik özellikleriyle genotipleri karşılaştırılmasında  $\chi^2$  testi kullanılmıştır. İstatistiksel işlemler SPSS 11.0 paket programı kullanılarak yapılmıştır. P değeri 0.05'den küçük ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



**Sekil 2.** nNOS C276T polimorfizminin PCR/RFLP sonrası görüntüsü (**TT** genotipi 128 bp'de, **CC** genotipi 100bp'de, **TC** genotipi 128bp ve 100 bp'de gözlenmiştir, **Marker:** 100 bp DNA ladder GeneRuler marker).

#### 4. BULGULAR

Çalışmaya klinik olarak migren tanısı konmuş olan 102'si kadın (%85) ve 18'i erkek (%15) olan 120 hasta ile 148'i (%80) kadın ve 37'si (%20) erkek olan 185 kontrol grubu alındı. Her iki grupta yaş ortalamaları sırasıyla 31.6±5.3 ve 29.2±4.2 olarak bulundu. Yaş ve cinsiyet dağılımı açısından migren grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ) (Tablo 13).

**Tablo 13.** Migrenlilerin ve kontrollerin yaş ve cins dağılımı

	<i>Migren grubu (n=120)</i>	<i>Kontrol grubu (n=185)</i>
<i>Kadın</i>	102 (%85)	148 (%80)
<i>Erkek</i>	18 (%15)	37 (%20)
<i>Yaş ortalaması</i>	31.6±5.3	29.2±4.2

**Tablo 14.** Migrenlilerde ve kontrol grubunda nNOS genotipleri ve allelleri

	<i>n</i>	<u><i>Genotipler</i></u>			<u><i>Allel</i></u>	
		<i>CC</i>	<i>TC</i>	<i>TT</i>	<i>T</i>	<i>C</i>
<i>Kontrol</i>	185	53 (%29)	78 (%42)	54 (%29)	186 (%50.2)	184 (%49.8)
<i>Hasta</i>	120	38 (%32)	54(%45)	28 (%23)	110 (%46)	130 (%54)

Migren grubundaki 120 hastada nNOS genotip dağılımları; 38 (%32) hasta CC, 54 hasta (%45) TC ve 28 (%23) hasta TT olarak saptandı. Buna karşılık kontrol grubunda CC, TC ve TT genotipleri sırasıyla 53 (%29), 78 (%42) ve 54 (%29) olarak bulundu. Migrenli grup ile kontrol grubu genotip dağılımı açısından karşılaştırıldıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ( $\chi^2= 1.286$ ,  $df= 2$ ,  $p= 0.5257$ ) (Tablo 14).

Allel dağılımları açısından hasta (T alleli 110 (%46) ve C alleli 130 (%54)) ve kontrol grubu (186 T alleli (%50.2), 184 C alleli (%49.8) arasında anlamlı fark bulunmamıştır ( $\chi^2= 1.147$ ,  $df= 1$ ,  $p= 0.2841$ ) (Tablo 14).

**Tablo 15.** Auralı ve Aurasız Migrenlilerde nNOS Genotip Dağılımı

<i>Genotip</i>	<i>Aurasız (n) (%)</i>	<i>Auralı(n) (%)</i>	<i>Toplam(n) (%)</i>	<i>p</i>
<b>CC</b>	26 (%33.3)	12 (%28.6)	38 (%31.7)	<b>0.247</b>
<b>TC</b>	31 (%39,7)	23 (%54.8)	54 (%45.0)	
<b>TT</b>	21 (%26.9)	7 (%16.7)	28 (%23.3)	
<b>Toplam</b>	78 (%100)	42 (%100)	120 (%100)	

Migrenli gruptaki 120 hastanın 78'i (%65) aurasız ve 42'si (%35) auralı migrenliydi. Aurasız migrenlilerde 26 hastada CC genotipi (%33.3), 31 hastada TC genotipi (%39.7) ve 21 hastada TT (%26.9) genotipi mevcuttu. Auralı migrenlilerde ise 12 hastada CC genotipi (%28.6), 23 hastada TC genotipi (%54.8) ve 7 hastada TT genotipi (%16.7) bulunmaktadır. Auralı ve aurasız migrenliler nNOS genotipleri açısından karşılaştırıldıklarında anlamlı istatistiksel farklılık bulunmadı ( $p>0.05$ ) (Tablo 15).

**Tablo 16.** Migrenli Grupta Atak Sıklığı ile nNOS Genotipi İlişkisi

<b>Genotip</b>	<b>1. Her gün n (%)</b>	<b>2. Haftada birden çok n (%)</b>	<b>3. Haftada bir n (%)</b>	<b>4. Ayda üç n (%)</b>	<b>5. Ayda iki n (%)</b>	<b>6. Ayda bir n (%)</b>	<b>7. İki ayda bir n (%)</b>	<b>Toplam n (%)</b>	<b>p</b>
<b>CC</b>	2 (%28.6)	13 (%39.4)	4 (%18.2)	8 (%38.1)	9 (%33.3)	2 (%33.3)	0 (%0.0)	38 (%31.7)	<b>0.084</b>
<b>TC</b>	4 (%57.1)	10 (%30.3)	10 (%45.5)	7 (%33.3)	18 (%66.7)	3 (%50.0)	2 (%50.0)	54 (%45.0)	
<b>TT</b>	1 (%14.3)	10 (%30.3)	8 (%36.4)	6 (%28.6)	0 (%0.0)	1 (%16.7)	2 (%50.0)	28 (%23.3)	
<b>Toplam</b>	7 (%100)	33 (%100)	22 (%100)	21 (%100)	27 (%100)	6 (%100)	4 (%100)	120 (%100)	

Migrenli hastaların son üç aydaki baş ağrı sıklıkları ile nNOS genotiplerinin ilişkisi değerlendirildi. Bunun için migrenli hastaların baş ağrısı sıklıkları 1. grup her gün, 2. grup haftada birden çok, 3. grup haftada bir, 4. grup ayda 3, 5. grup ayda 2, 6. grup ayda bir, 7. grup iki ayda bir olarak ayrıldı. 1.grupta CC genotipi 2'sinde (%28.6), TC genotipi 4'ünde (%57.1), TT genotipi 1'inde (%14.3) bulunmaktadır. 2.grupta CC genotipi 13'ünde (%39.4), TC ve TT genotipleri 10'unda (%30.3) mevcuttur. 3.grupta CC genotipi 4'ünde (%18.2), TC genotipi 10'unda (%45.5) ve TT genotipi 8'inde (%36.4) mevcuttur. 4. grupta CC genotipi 8'inde (%38.1), TC genotipi 7'sinde (%33.3) ve TT genotipi 6'sında (%28.6) bulunmaktadır. 5. grupta CC genotipi 9'unda (%33.3), TC genotipi 18'inde (%66.7) mevcuttur ancak TT genotipi bulunmamaktadır. 6. grupta CC genotipi 2'sinde (%33.3), TC genotipi (%50.0) ve TT genotipi 1'inde (%16.7) bulunmaktadır. 7.grupta CC genotipi bulunmamaktadır, TC ve TT genotipleri 2'sinde (%50.0) mevcuttur. Atak sıklığı ile nNOS genotipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0.05$ ) (Tablo 16).

**Tablo 17.** Migrenlilerde Baş Ağrısı Başlama Yaşı ile nNOS Genotipi İlişkisi

<b>Genotip</b>	<b>10-15</b>	<b>16-20</b>	<b>21-25</b>	<b>26-30</b>	<b>31-35</b>	<b>36-40</b>	<b>Toplam</b>	<b>p</b>
<b>CC</b>	4 (%25.0)	11 (%28.2)	9 (%34.6)	8 (%30.8)	4 (%50.0)	2 (%40.0)	38 (%31.7)	<b>0.745</b>
<b>TC</b>	6 (%37.5)	18 (%46.2)	12 (%46.2)	11 (%42.3)	4 (%50.0)	3 (%60.0)	54 (%45.0)	
<b>TT</b>	6 (%37.5)	10 (%25.6)	5 (%19.2)	7 (%26.9)	0 (%0.0)	0 (%0.0)	28 (%23.3)	
<b>Toplam</b>	16 (%100)	39 (%100)	26 (%100)	26 (%100)	8 (%100)	5 (%100)	120 (%100)	

Migren baş ağrılarının başlama yaşı ile nNOS genotipleri arasında ilişki olup olmadığı değerlendirildi. 10-15 yaş grubunda CC genotipi 4'ünde (%25.0), TC ve TT genotipleri 6'sında (%37.5) bulundu. 16-20 yaş grubunda CC genotipi 11'inde (%28.2), TC genotipi 18'inde (%46.2) ve TT genotipi 10'unda (%25.6) bulundu. 21-25 yaş grubunda CC genotipi 9'unda (%34.6), TC genotipi 12'sinde (%46.2) ve TT genotipi 5'inde (%19.2) bulundu. 26-30 yaş grubunda CC genotipi 8'inde (%30.8), TC genotipi 11'inde (%42.3) ve TT genotipi 7'sinde (%26.9) bulundu. 31-35 yaş grubunda CC ve TC genotipleri 4'ünde (%50.0) mevcutken TT genotipi bulunmadı. 36-40 yaş grubunda CC genotipi 2'sinde (%31.7), TC genotipi 3'ünde (%45.0) bulunurken TT genotipi bulunmadı. Migren baş ağrılarının başlama yaşı ile nNOS genotipleri arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ( $p>0.05$ ) (Tablo 17).

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Baş ağrıları, insanlığın var olmasından beri sık karşılaşılan, tüm insanları ilgilendiren önemli bir sorundur. Baş ağrılarının bir türü olan migren, tüm baş ağrıları arasında önemli bir yere sahip olup, özellikle 25-55 yaşları arasında ve çoğunlukla kadınlarda görülmektedir. Bu yaşlar, insanların en üretken olduğu yılları içerdiğinden migren iş ve güç kaybına neden olabilmekte ve yaşam kalitesini doğrudan etkilemektedir. Bu nedenle migren etkin ve tam olarak tedavi edilmelidir (6).

Migren etiyolojisi tam olarak bilinmemekle birlikte fizyopatolojisi karmaşıktır. Bugün için genetik ve çevresel faktörler, intra ve ekstrakranial vasküler değişiklikler, hipotalamik disfonksiyon, nörotransmitterler, trigeminovasküler anormallikler ve nörojenik inflamasyonun ortak rolü olduğu kabul edilmektedir. Bazı dış etkenlerin (stres, uykusuzluk, yiyecekler, diyet, nitrogliserin gibi ilaçlar v.b.) genetik olarak yatkın kişilerde atakları başlattığı, noradrenerjik ve serotonerjik sinir liflerini uyararak intrakranial damarların vazodilatasyonuna, trigeminal siniri uyararak inflamatuvar nöropeptidlerin salınmasına, sonuçta vazodilatasyon, inflamasyon ve ağrının oluşmasına yol açtığı düşünülmektedir (143). Migren etiyolojisinde genetik yatkınlığın önemi uzun zamandan beri bilinmektedir. Bu nedenle, son yıllarda moleküler genetiğin gelişimiyle migren etiopatogenezinde rolü olabilecek çeşitli nörotransmitterler, enzimler, reseptörler v.s. ile hastalığın ilişkisinin araştırıldığı çeşitli çalışmalar yapılmış (21, 22, 85-127); ancak bir gen ve/veya gen bölgesi ile kesin bir ilişki kurulamamıştır.

Olesen ve arkadaşları (144), NO donörü olan gliseril trinitrat ve vasküler endotelyumdan NO salgılayan histamin infüzyonunun baş ağrısını indüklediğini ve yaptıkları çalışmalar sonunda NO'nun migren patogenezinde bir kilit molekül olabileceğini öne sürmüşlerdir. NO'nun kan damarları, perivasküler sinir uçları veya beyin dokusundan salınması, spontan migren ağrısını tetikleyen moleküler bir mekanizmadır. Ayrıca, aynı çalışmada intravenöz NOS inhibitörü infüzyonunun migren ataklarının akut tedavisinde etkin bir yaklaşım olabileceği gösterilmiştir (18, 144).

Shimomura ve arkadaşları (145), migrenli hastalarda migren atağı sırasında trombosit nitrit, total nitrit/nitrat konsantrasyonlarını yüksek bulmuşlardır. Bu bulgular, migren atağı sırasında trombositlerin NO salgıladığını ve migren atağı sırasında NO

etkisiyle meydana gelen serebral kan akışındaki değişikliklerle ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

NO'nun migren ataklarının tetiklenmesinde mi yoksa baş ağrısının devamında mı rolü olduğu tam olarak bilinmemektedir. NOS inhibitörü (NG metilarginin) ile yapılan bir çalışmada NO'nun migren ataklarındaki rolünün serebral kan akımını değiştirmekten ziyade, tetikleyici bir mekanizma ile olabileceği ve NOS inhibisyonu ile migren ataklarının azalmasının serebral vazospazmdan çok NO azalmasına bağlı olabileceği belirtilmektedir (14). Bir başka çalışmada ise NO-sGMP yolağının direkt etkisiyle baş ağrısının başladığı ve daha sonra trigeminovasküler aktivasyonun tetiklediği vasküler düz kas gevşemesi ve sonuç olarak da vazodilatasyonun baş ağrısının devamına sebep olduğunu öne sürülmüştür (146). NO, çözünebilir guanilat siklaz aktivasyonu ile sGMP sentezine yol açmakta ve vasküler kaslardaki bu NO-sGMP yolu, vasküler gevşemeye neden olmaktadır. NO sentezini oluşturan bu yolak, nitrogliserin ve histamin kaynaklı baş ağrıları gibi deneysel baş ağrısı modellerinde aktive olmaktadır (9, 147).

Migren atağı sırasında artmış olan NO'nun sentezinden sorumlu olan NOS enzimlerinin hangisinden kaynaklandığı tam olarak bilinmemektedir. Santral sinir sisteminde vasküler endotel hücrelerinden kaynaklanan eNOS ve nöronal kaynaklı olan nNOS'un her ikisi de önemli role sahip olduğundan migren etiyopatogenezinde her iki NOS enzimi (eNOS ve nNOS) kaynaklı NO'nun rolü olabilir. Migren atağı sırasındaki ani pulsatil serebral kan akımı artışı hemodinamik değişiklikler, vasküler sürtünme stresinin (shear stres) artması sonucu endotelial hücre membranı deformasyonu ile sentezlenen vasküler NO'nun aktivitesindeki değişikliklere dayanabilir (148, 149). NO, migren atağı ile sonuçlanabilecek nörojenik kraniyal damar inflamasyonunun başlangıcında ve devamında önemli bir mediyatör olabilir (147). Migrende NO'nun rolünün araştırıldığı bir başka çalışmada da klinik olarak etkin antimigren bileşiklerin, trigeminal nöronlardan kalsitonin geni ile ilişkili peptid (CGRP) salınımını inhibe ettiği veya dural damarlarda vazodilatasyonu önlediği ya da bu etkilerden her ikisini de yaptığı düşünülmektedir. Akerman ve arkadaşları (146) spesifik NOS inhibitörlerinin, nörojenik dural vazodilatasyon ve CGRP ile ilişkili vazodilatasyonu

önleyip önlemediğini test etmişler ve iNOS spesifik inhibitörün nörojenik dural vazodilatasyon ve CGRP'nin indüklediği dilatasyonu etkilemediğini, non-spesifik ve eNOS spesifik inhibitörlerin CGRP'ye bağlı dilatasyonu kısmen inhibe ettiğini ve non-spesifik ve nNOS spesifik inhibitörlerin nörojenik dural vazodilatasyonu kısmen inhibe ettiğini göstermişlerdir. Bu bulgular NO donörlerinin tetiklediği baş ağrısının kısmen trigeminal sistemde CGRP salınımına neden olan artmış nNOS aktivitesi ve dural damarlarda dilatasyon sonucu olabileceğini kısmen de endotelyumdaki eNOS aracılığıyla NO-sGMP yolağı aktivasyonu ve NO yapımı sonucu düz kas gevşemesi ve baş ağrısının tetiklendiğini düşündürmüştür (146).

Migren etiolojisinde genetik faktörlerin önemli rolünün olması ve fizyopatolojide NO'nun rolünden dolayı hastalığın etiolojisi ve yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesi amaçlanarak son yıllarda migren ile ilişkili olabilecek SSS'de etkin olan çeşitli nörotransmitterler, enzimler, reseptörler, genler, nöropeptidler v.s. ile ilgili genetik farklılığı yansıtacak polimorfizm çalışmaları hız kazanmıştır.

Çeşitli çalışma grupları NOS genlerindeki polimorfizmlerle migren arasındaki ilişkinin araştırıldığı çalışmalar yapmışlardır. Migren etiopatogenezinde rol oynayan NO'nun kaynağının eNOS ve nNOS olabileceği belirtilmekte; ancak bu ikisinden hangisinin sorumlu olduğu kesin olarak söylenememektedir. Ancak deneysel çalışmalardan elde edilen veriler her iki NOS enziminden kaynaklanan NO'nun rolü olabileceğini düşündürmektedir.

Griffiths ve arkadaşları (85) NO'nun ağrı uyarısının santral sürecindeki rolü ve bazal veya stimüle edilmiş vazodilatasyonun kontrolündeki önemli rolü nedeniyle migren etiolojisinde bir aday gen olabileceğini düşünerek eNOS geni polimorfizmini araştırmışlar fakat anlamlı bir ilişki bulamamışlardır. Daha sonra, Borroni ve arkadaşları (21) eNOS aktivitesinde azalmaya neden olan eNOS geni Glu298Asp polimorfizmini araştırdıkları çalışmalarında hastalığın başlama yaşı, atak sıklığı, aile öyküsü gibi parametrelerle genotipler arasında anlamlı ilişki bulamazken eNOS Asp/Asp homozigot hastalarda aurasız migrenlilere göre auralı migren riskini 3 kat ve kontrollere göre migren riskini 2 kat arttırdığını göstermişler ve Asp298 homozigot genotipin auralı migren için bağımsız bir risk faktörü olduğunu bildirmişlerdir. eNOS Glu298Asp polimorfizmi (Asp alleleline sahip olanlarda) bazal NO oluşumundaki azalma ile

ilişkilidir (150).

Migren gibi kompleks bir hastalıkta farklı aday genler olabileceği düşünülerek iNOS geni promoter bölgesinde biallelik tetranukleotid polimorfizmi araştırılmış ancak allel dağılımı açısından migren ve kontrol grupları arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (86).

nNOS C276T polimorfizmi ile migren arasındaki ilişkinin araştırıldığı bir çalışma literatürde bulunmamaktadır. Ayrıca nNOS polimorfizminin NO düzeyleri üzerindeki etkilerinin araştırıldığı herhangi bir çalışmaya da rastlanmamıştır.

NO nörotransmisyon, düz kas motilitesi ve nosisepsiyona aracılık etmek gibi yaygın biyolojik aktivitelere sahip bir moleküldür. nNOS tarafından sentezlenen NO santral ve periferel sinir sistemi ve serebral kan akımının otonomik innervasyonunda önemli role sahiptir. Ayrıca NO'nun migren etiopatogenezindeki olası önemli rolü nedeniyle bu çalışmada nNOS C276T polimorfizminin auralı ve aurasız migrendeki rolü ve ayrıca hastalardaki çeşitli klinik parametrelerle (hastalığın başlama yaşı, atak sıklığı gibi) genotiplerin ilişkisinin olup olmadığı araştırılmıştır. Bu çalışmada migrenli hastalar ve kontrol grubu arasında genotip dağılımı ile hastalığa yatkınlık ve hastalığın klinik özellikleri açısından anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. nNOS polimorfizminin migrenle ilişkisinin incelendiği bir çalışmada da Johnson ve arkadaşları (22) nNOS geni 5' ve 3' bölgelerinde iki mikrosatellit tekrar varyantlarının migren (auralı ve aurasız) yatkınlığı ile ilişkisini araştırmışlar ancak anlamlı ilişki bulamamışlardır.

Migren oldukça kompleks bir etiopatogeneze sahip ve yaygın bir hastalık olduğundan ayrıca ailesel yığılım gösterdiğinden ve genetik faktörlerin etiolojide rolü olduğundan araştırılması gereken bir konudur. Migrende rolü olan genetik faktörleri tek bir gene indirgemek mümkün değildir, muhtemelen farklı genler (tip ve sayısı bilinmeyen) ve bir takım başka faktörler (endojen faktörler, diyet, çevresel faktörler, stres, bazı ilaçlar vs.) kompleks bir etkileşim halinde hastalık etiolojisine katkıda bulunmaktadır. NO migren etiopatogenezinde rolü olduğu gösterilen bir moleküldür, bu nedenle bu moleküle yönelik araştırmaların yapılması gelecekte tedavi stratejileri açısından yol gösterici olabilecektir. Yapılan çalışmalar NOS inhibitörlerinin akut migren atağının tedavisinde etkili olabileceğini göstermektedir, ayrıca migrende rolü

olan NO'nun kaynağının belirlenmesi ile belki NOS spesifik inhibitörler gelecekte tedavi yaklaşımlarından birisi olabilir.

## 6. KAYNAKLAR

1. ÖZCAN, İ.: Ağrı, baş, boyun ve orofasial ağrılar. Nobel Kitabevi, Ankara, 2000, 121-135.
2. OĞUL, E.: Klinik Nöroloji, Baş Ağrıları (Zarifoğlu M, Siva A), Nobel&Güneş Kitabevi, İstanbul.No:1, 2002, 107-121.
3. PAULUS, S.: Baş ve Boyun Ağrısı Sendromları. İstanbul, Yüce Dağıtım, 2000, 55-64.
4. MATHEW, NT.: Pathophysiology, epidemiology, and impact of migraine. Clin Cornerstone, 4(3):1-17, 2001.
5. SİVA, A.: Migren. Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri. İstanbul, 2002, 39-50.
6. LIPTON, RB., STEWART, WF., VON KORFF, M.: Burden of migraine: Societal costs and therapeutic opportunities. Neurology, 48(Suppl 3):S4-9, 1997.
7. OLESEN, J., IVERSEN, H. K., THOMSEN, L. L.: Nitric oxide supersensitivity. A possible molecular mechanism of migraine pain. Neuroreport, 4(8):1027-30, 1993.
8. MOSKOWITZ, MA.: Neurogenic inflammation in the pathophysiology and treatment of migraine. Neurology, 43(6 Suppl 3):S16-20, 1993.
9. SHUKLA, R., BARTH WAL., MK., SRIVASTAVA, N., NAG, D., SETH, PK., SRIMAL, RC., DIKSHIT, M.: Blood nitrite levels in patients with migraine during headache-free period. Headache, 41(5):475-81, 2001.
10. MASHIMO, T., PAK, M., CHOE, H., INAGAKI, Y., YAMAMOTO, M., YOSHIYA, I.: Effects of vasodilators guanethidine, nicardipine, nitroglycerin, and prostaglandin E1 on primary afferent nociceptors in humans. J Clin Pharmacol, 37(4):330-5, 1997.

11. OLESEN, J., THOMSEN, LL., IVERSEN, H.: Nitric oxide is a key molecule in migraine and other vascular headaches. *Trends Pharmacol Sci*, 15(5):149-53, 1994.
12. LASSEN, LH., THOMSEN, LL., KRUISE, C., IVERSEN, HK., OLESEN, J.: Histamine-1 receptor blockade does not prevent nitroglycerin induced migraine. Support for the NO-hypothesis of migraine. *Eur J Clin Pharmacol*, 49(5):335-9, 1996.
13. LASSEN, LH., THOMSEN, LL., OLESEN, J.: Histamine induces migraine via the H1-receptor. Support for the NO hypothesis of migraine. *Neuroreport*, 6(11):1475-9, 1995.
14. LASSEN, LH., ASHINA, M., CHRISTIANSEN, I., ULRICH, V., GROVER, R., DONALDSON, J., OLESEN, J.: Nitric oxide synthase inhibition: a new principle in the treatment of migraine attacks. *Cephalalgia*, 18(1):27-32, 1998.
15. MONCADA, S., PALMER, RMJ., HIGGS, A.: Nitric oxide: Physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev*, 43:109-41, 1991.
16. FRIBERG, L., OLESEN, J., IVERSEN, HK., SPERLING, B.: Migraine pain associated with middle cerebral artery dilatation: reversal by sumatriptan. *Lancet*, 338(8758):13-7, 1991.
17. NOZAKI, K., MOSKOWITZ, MA., MAYNARD, KI., KOKETSU, N., DAWSON, TM., BREDT, DS., SNYDER, SH.: Possible origins and distribution of immunoreactive nitric oxide synthase-containing nerve fibers in cerebral arteries. *J Cereb Blood Flow Metab*, 13(1):70-9, 1993.
18. OLESEN, J., THOMSEN, LL., LASSEN, LH., JANSEN-OLESEN, I.: The nitric oxide hypothesis of migraine and other vascular headaches. *Cephalalgia*, 15(2): 94-100, 1995.

19. MELLER, ST., GEBHART, GF.: Nitric oxide (NO) and nociceptive processing in the spinal cord. *Pain*, 52(2):127-36, 1993.
20. CASTELLANO, AE., MICELLI, G., BELLATONIE, P.: Indomethacin increases the effect of isosorbide dinitrate on cerebral hemodynamics in migraine patients. *Cephalalgia*, 18(9):622-630, 1998.
21. BORRONI, B., RAO, R., LIBERINI P., VENTURELLI, E., COSSANDI, M., ARCHETTI, S., CAIMI, L., PADOVANI, A.: Endothelial nitric oxide synthase (Glu298Asp) polymorphism is an independent risk factor for migraine with aura. *Headache*, 46(10):1575-9, 2006.
22. JOHNSON, MP., LEA, RA., COLSON, NJ., MACMILLAN, JC., GRIFFITHS, LR.: A population genomics overview of the neuronal nitric oxide synthase (nNOS) gene and its relationship to migraine susceptibility. *Cell Mol Biol*, 51(3):285-92, 2005.
23. RASMUSSEN, BK.: Epidemiology of headache. *Cephalalgia*, 15(1):45-68, 1995.
24. YALTKAYA, K., BALKAN, S., OĞUZ, Y.: *Nöroloji Ders Kitabı. 2. Baskı*, Ankara, Palme Yayıncılık, 1996, 251-265.
25. ERTEKİN, C.: *Nörolojide Fiziopatoloji*. Bilgehan Matbaası, İzmir, 1987, 167-169.
26. SWANSON, WJ., DODICK, WD., CAPOBIANCO, JD.: Headache and Other Craniofacial Pain. In: *Neurology in Clinical Practice* (third ed.), Bradley, GW., Daroff, BR., Fenichel, MG., Marsden, DC., Butterworth-Heinemann, 73: 1829-1878, 2000.
27. GILROY, J.: Temel Nöroloji (Çev. Karabudak R) Güneş Kitabevi, Ankara, No:1, 2002, 123-135.

28. SAIP, S.: Küme Baş Ağrısı ve diğer seyrek görülen Primer Baş Ağrıları. Siva A, Hancı M.(ed). Baş, Boyun, Bel Ağrıları. İ.. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Yayınları, İstanbul, No:30. 2002, 55-67.
29. OKSAY, R.: Baş ağrısı başa bela olmaktan çıkıyor. Cumhuriyet Bilim Teknik, 2003; 826:8-9.
30. GOADSBY, PJ.: Current concepts of the pathophysiology of migraine. Neurol Clin, 15(1):27-42, 1997.
31. MOSKOWITZ, MA.: Neurogenic versus vascular mechanisms of sumatriptan and ergot alkaloids in migraine. Trend Pharmacol Sci, 13(8):307-11, 1992.
32. GOADSBY, PJ., LIPTON, RB., FERRARI, MD.: Migraine--current understanding and management. N Engl J Med, 346(4):257-70, 2002.
33. BOLAY, H., REUTER, U., DUNN, AK., HUANG, Z., BOAS, DA., MOSKOWITZ, MA.: Intrinsic brain activity triggers trigeminal meningeal afferents in a migraine model. Nature Med, 8(2):136-42, 2002.
34. IADECOLA, C.: From CSD to headache: a long and winding road. Nature Med, 8(2):110-12, 2002.
35. MAYBERG, M., LANGER, RS., ZERVAS, NT., MOSKOWITZ, MA.: Perivascular meningeal projections from cat trigeminal ganglia: possible pathway for vascular headaches in man. Science, 213(4504):228-30, 1981.
36. FEINDEL, W., PENFIELD, W., McNAUGHTON, F.: The tentorial nerves and localization of intracranial pain in man. Neurology, 10:555-63, 1960.
37. BUZZI, MG., MOSKOWITZ, MA.: The antimigraine drug, sumatriptan (GR43175), selectively blocks neurogenic plasma extravasation from blood vessels in dura mater. Br J Pharmacol, 99(1):202-6, 1990.

38. ALLEN, GV., BARBRICK, B., ESSER, MJ.: Trigeminal-parabrachial connections: possible pathway for nociception induced cardiovascular reflex responses. *Brain Res*, 715(1-2):125-35, 1996.
39. BOLAY, H., MOSKOWITZ, MA.: Mechanisms of pain modulation in chronic syndromes. *Neurology*, 59(5 Suppl 2):S2-7, 2002.
40. WEILLER, C., MAY, A., LIMMROTH, V., JUPTNER, M., KAUBE, H., SCHAYCK, RV., COENEN, HH., DIENER, HC.: Brain stem activation in spontaneous human migraine attacks. *Nature Med.*, 1(7):658-660, 1995.
41. TEPPER, SJ., RAPOPORT, A., SHEFTELL, F.: The pathophysiology of migraine. *Neurologist*, 7(5):279-86, 2001.
42. HADJIKHANI, N., SANCHEZ DEL RIO, M., WU, O., SCHWARTZ, D., BAKKER, D., FISCHL, B., KWONG, KK., CUTRER, FM., ROSEN, BR., TOOTELL, RB., SORENSEN, AG., MOSKOWITZ, MA.: Mechanisms of migraine aura revealed by functional MRI in human visual cortex. *Proc Natl Acad Sci USA*, 98(8):4687-92, 2001.
43. CAO, Y., WELCH, KM., AURORA, S., VIKINGSTAD, EM.: Functional MRI-BOLD of visually triggered headache in patients with migraine. *Arch Neurol*, 56(5):548-54, 1999.
44. LAURITZEN, M., OLESEN, J.: Regional cerebral blood flow during migraine attacks by Xenon-133 inhalation and emission tomography. *Brain*, 107(Pt 2):447-61, 1984.
45. <http://hastane.harran.edu.tr/norofatih/basagrisi.htm>, 15.09.2007

46. STEWART, WF., SIMON, D., SHECHTER, A., LIPTON, RB.: Population variation in migraine prevalence a meta-analysis. *J Clin Epidemiol*, 48(2):269-80, 1995.
47. STONG, P., STERNFELD, B., SIDNEY, S.: Migraine headache in a prepaid health plan: ascertainment demographics, physiological and behavioral factors. *Headache*, 36(2):69-76, 1996.
48. STEWART, WF., LIPTON, RB., CELENTANO, DO., REED ML. Prevalence of migraine headache in the United States in relation to age, income, race and other sociodemographic factors. *JAMA*, 267(1):64-69, 1992.
49. STEWART, WF., LIPTON, RB., LIBERMAN, J.: Variation in migraine prevalence by race. *Neurology*, 47(1):52-9, 1996.
50. LIPTON, RB., STEWART, WF., DIAMOND, S., DIAMOND, ML., REED, M.: Prevalence and burden of migraine in the United States: data from the American Migraine Study II. *Headache*, 41(7):646-57, 2001.
51. MANNIX, LK., FRAME, JR., SOLOMON, GD.: Alcohol smoking and caffeine use among headache patients. *Headache*, 37(6):572-6, 1997.
52. SANDLER, M., LI, NY., JARRETT, N., GLOVER, V.: Dietary migraine: recent progress in the red (and white) wine story. *Cephalalgia*, 15(2):101-3, 1995.
53. HOLM, JE., LOKKEN, C., MYERS, TC.: Migraine and stress. A daily examination of temporal relationships in women migraineurs. *Headache*, 37(9):553-8, 1997.
54. JOHANNES, CB., LINET, MS., STEWART, WF., CELENTANO, DD., LIPTON, RB., SZKLO, M.: Relationship of headache to phase of the menstrual cycle among young women. A daily diary study. *Neurology*, 45(6):1076-82, 1995.

55. PACAKARD, RC., HAM, LP.: Pathogenesis of posttraumatic headache and migraine. A common headache pathway? *Headache*, 37(3):142-52, 1997.
56. SILBERSTEIN, SD., YOUNG, WB.: Migraine aura and prodrome. *Sem Neurol*, 15(2):175-82, 1995.
57. JENSEN, K., Tfelt-Hansen, P., Lauritzen, M., Olesen, J.: Classic migraine, a prospective recording of symptoms. *Acta Neurol Scand*, 73(4):359-62, 1986.
58. BLAU, JN.: Classical migraine: symptoms between visual aura and headache onset. *Lancet*, 340(8815):355-6, 1992.
59. HONKASALO, ML., KAPRIO, J., WINTER, T., HEIKKILA, K., SILLANPAA, M., KOSKENVUO, M.: Migraine and concomitant symptoms among 8167 adult twin pairs. *Headache*, 35(2):70-78, 1995.
60. JOUTEL, A., BOUSSER, MG., BIOUSSE, V., LABAUGE, P., CHABRIAT, H., NIBBIO, A., MACIAZEK, J., MEYER, B., BACH, MA., WEISSENBAACH, J.: A gene for familial hemiplegic migraine maps to chromosome 19. *Nat Genet*, 5(1):40-5, 1993.
61. NYHOLT, DR., LEA, RA., GOADSBY, PJ., BRIMAGE, PJ., GRIFFITHS, LR.: Familial typical migraine: linkage to chromosome 19p13 and evidence for genetic heterogeneity. *Neurology*, 50(5):1428-1432, 1998.
62. ÇEKMEN, B., M., TURKOZ, Y., TURGUT, M., GOZUKARA, M., E.: Nitrik oksit ve nitrik oksit sentaz: Fizyolojik ve patolojik özellikleri. *T Klin Pediatr*, 10:226-236, 2001.
63. ARNOLD, WP., MITTAL, CK., KATSUKI, S., MURAD, F.: Nitric oxide activates guanylate cyclase and increases guanosine 3':5' cyclic monophosphate levels in various tissue preparations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 74(8):3203-7, 1977.

64. CRAVEN, PA., DERUBERTIS, FR.: Restoration of the responsiveness of purified guanylate cyclase to nitrosoguanidine, nitric oxide, and related activators by heme and hemeproteins. Evidence for involvement of the paramagnetic nitrosyl-heme complex in enzyme activation. *J. Biol. Chem.*, 253(23):8433-43, 1978.
65. IGNARRO, LJ., BYRNS, RE., BUGA, GM., WOOD, KS., CHAUDHURI, G.: Pharmacological evidence that endothelium-derived relaxing factor is nitric oxide: use of pyrogallol and superoxide dismutase to study endothelium-dependent and nitric oxide-elicited vascular smooth muscle relaxation. *J Pharmacol Exp Ther*, 244(1):181-9, 1988.
66. <http://web.inonu.edu.tr/~iozerol/iozerol/seminerler/NitrikOksit/yansayfa.htm>, 07.08.2007
67. ALDERTON, WK., COOPER, CE., KNOWLES, RG.: Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem J*, 357:593-615, 2001.
68. ALADAG, MA., TURKOZ, Y., OZEROL, IH.: Nitric oxide and its neurophysiopathological effects. *T Klin Med sci*, 20:107-111, 2000.
69. LOSCALZO, J., WELCH, G.: Nitric oxide and its role in the cardiovascular system. *Prog Cardiovasc Dis*, 38(2):87-104, 1995.
70. LLOYD-JONES, DM., BLOCH, KD.: The vascular biology of nitric oxide and its role in atherogenesis. *Annu Rev Med*, 47:365-75, 1996.
71. DAWSON, VL., DAWSON, TM., UHL, GR., SYNDER, SH.: Human immunodeficiency virus type 1 coat protein neurotoxicity mediated by nitric oxide in primary cortical cultures. *Proc Natl Acad Sci USA*, 90(8):3256-59, 1993.

72. KONG, LY., WILSON, BC., MC MILLIAN, MK., BING, G., HUDSON, PM., HONG, JS.: The effects of the HIV-1 envelope protein gp120 on the protein on the production of nitric oxide and proinflammatory cytokines in mixed glial cell cultures. *Cell Immunol*, 172(1):77-83, 1996.
73. BO, L., DAWSON, TM., WESELINGH, S., MORK, S., CHOI, S., KONG, PA., HANLEY, D., TRAPP, BD.: Induction of nitric oxide synthase in demyelinating regions of multiple sclerosis brains. *Ann Neurol*, 36(5):778-86, 1994.
74. VISSER, JJ., SCHOLTEN RJPM., HOEKMAN, K.: Nitric oxide synthesis in meningococcal meningitis. *Ann Intern Med*, 120(4):345-6, 1994.
75. GARTHWAITE, J., BOULTON, CL.: Nitric oxide signaling in the central nervous system. *Annu Rev Physiol*, 57:683-706, 1995.
76. WEI, EP., MOSKOWITZ, MA., BOCCALINI, P., KONTOS, HA.: Calcitonin gene-related peptide mediates nitroglycerin and sodium nitroprusside-induced vasodilation in feline cerebral arterioles. *Circ Res*, 70(6):1313-9, 1992.
77. [http://www.ctf.edu.tr/farma/tfd/tfd2005\\_kitapcik.pdf?ref=sirket10.info](http://www.ctf.edu.tr/farma/tfd/tfd2005_kitapcik.pdf?ref=sirket10.info), 20.08.2007
78. ZWETSLOOT, CP., CAEKEBEKE, JF., FERRARI, MD.: Lack of asymmetry of middle cerebral artery blood velocity in unilateral migraine. *Stroke*, 24(9):1335-8, 1993.
79. MITROVIC, B., MARTIN, FC., CHARLES, AC., IGNARRO, LJ., ANTON, PA., SHANAHAN, F., MERRILL, JE.: Neurotransmitters and cytokines in CNS pathology. *Prog Brain Res*, 103:319-30, 1994.
80. AKIN, H.: Tıbbi Genetik Terimleri Sözlüğü "Tıp Terimleri Sözlüğü", Sendrom III, Logos Tıp Yayınları,1:1-24, 2003.

81. KRUGLYAK, L.: The use of a genetic map of biallelic markers in linkage studies. *Nature Gen*, 17(1):21-24, 1997.
82. SHEN, P., BUCHHOLZ, M., SUNG, R., ROXAS, A., FRANCO, C., YANG, WH., JAGADESSAN, R., DAVIS, K., OEFNER, PJ.: Population genetic implications from DNA polymorphism in random human genomic sequences. *Human Mutat*, 20(3):209-217, 2002.
83. SOLAK, M., BAĞCI, H., ŞENGİL, AZ., ÖZTAŞ, S.: *Moleküler Genetik ve Rekombinant DNA Teknolojisi*. Afyon, Teknik Hazırlık Baskı, 2000.
84. ÖNER, C.: *Genetik Kavramlar*. 6. Baskı, Ankara, Palme Yayıncılık, 2002, 578-579.
85. GRIFFITHS, LR., NYHOLT, DR., CURTAIN, RP., GOADSBY, PJ., BRIMAGE, PJ.: Migraine association and linkage studies of an endothelial nitric oxide synthase (NOS3) gene polymorphism. *Neurology*, 49(2): 614-617, 1997.
86. LEA, RA., CURTAIN, RP., SHEPHERD, AG., BRIMAGE, PJ., GRIFFITHS, LR.: No evidence for involvement of the human inducible nitric oxide synthase (iNOS) gene in susceptibility to typical migraine. *Am J Med Genet*, 105(1):110-3, 2001.
87. ERDAL, ME., HERKEN, H., YILMAZ, M., BAYAZIT, YA.: Association of the T102C polymorphism of 5-HT2A receptor gene with aura in migraine. *J Neurol Sci*, 188(1-2):99-101, 2001.
88. YANG, XS., XU, XP., YANG, QD.: No association of C-1019G promoter polymorphism of 5-HT1A receptor gene with migraine. *Eur J Neurol*, 13(5):533-5, 2006.

89. JUHASZ, G., ZSOMBOK, T., LASZIK, A., GONDA, X., SOTONYI, P., FALUDI, G., BAGDY, G.: Association analysis of 5-HTTLPR variants, 5-HT<sub>2a</sub> receptor gene 102T/C polymorphism and migraine. *J Neurogenet*, 17(2-3):231-40, 2003.
90. MARZINIAK, M., MÖSSNER, R., KIENZLER, C., RIEDERER, P., LESCH, KP., SOMMER, C.: Functional polymorphisms of the 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>1B</sub> receptor are associated with clinical symptoms in migraineurs. *J Neural Transm*, 114(9):1227-32, 2007.
91. RACCHI, M., LEONE, M., PORRELLO, E., RIGAMONTI, A., GOVONI, S., SIRONI, M., MONTOMOLI, C., BUSSONE, G.: Familial migraine with aura: association study with 5-HT<sub>1B/1D</sub>, 5-HT<sub>2C</sub>, and hSERT polymorphisms. *Headache*, 44(4):311-7, 2004.
92. YILMAZ, M., ERDAL, ME., HERKEN, H., ÇATALOLUK, O., BARLAS, Ö., BAYAZIT, YA.: Significance of serotonin transporter gene polymorphism in migraine. *J Neurol Sci*, 186(1-2):27-30, 2001.
93. KARWAUTZ, AF., CAMPOS DE SOUSA, S., WÖBER, C., WAGNER, G., LI, T., KONRAD, A., ZESCH, HE., ZORMANN, A., BERGER, G., WANNER, C., WÖBER-BİNGÖL, C., COLLIER, DA.: Family-based analysis of serotonin transporter gene polymorphisms in migraine with and without aura. *Cephalalgia*, 27(7):773-80, 2007.
94. PARK, JW., HAN, SR., YANG, DW., KIM, YI., LEE, KS.: Serotonin transporter protein polymorphism and harm avoidance personality in migraine without aura. *Headache*, 46(6):991-6, 2006.
95. OGILVIE, AD., RUSSELL, MB., DHALL, P., BATTERSBY, S., ULRICH, V., SMITH, CA., GOODWIN, GM., HARMAR, AJ., OLESEN, J.: Altered allelic distributions of the serotonin transporter gene in migraine without aura and migraine with aura. *Cephalalgia*, 18(1):23-6, 1998.

96. KOTAMI, K., SHIMOMURA, T., SHIMONURA, F., IKAWA, S.: A polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region and frequency of migraine attacks. *Headache*, 42(9):893-5, 2002.
97. JUHASZ, G., ZSOMBOK, T., LASZIK, A., JAKUS, R., FALUDI, G., SOTONYI, P., BAGDY, G.: Despite the general correlation of the serotonin transporter gene regulatory region polymorphism (5-HTTLPR) and platelet serotonin concentration, lower platelet serotonin concentration in migraine patients is independent of the 5-HTTLPR variants. *Neurosci Lett*, 350(1):56-60, 2003.
98. GONDA, X., RIHMER, Z., JUHASZ, G., ZSOMBOK, T., BAGDY, G.: High anxiety and migraine are associated with the s allele of the 5HTTLPR gene polymorphism. *Psychiatry Res*, 149(1-3):261-6, 2007.
99. KIM, WK., KIM, HS., KIM, WJ., LEE, KY., PARK, H., KIM, CH., KIM, SJ., CHOI, YC.: Serotonin transporter gene polymorphism and migraine in the Korean population. *Headache*, 45(8):1056-60, 2005.
100. BORRONI, B., BRAMBILLA, C., LIBERINI, P., RAO, R., ARCHETTI, S., GIPPONI, S., VOLTA, GD., PADOVANI, A.: Functional serotonin 5-HTTLPR polymorphism is a risk factor for migraine with aura. *J Headache Pain*, 6(4):182-4, 2005.
101. TODT, U., FREUDENBERG, J., GOEBEL, I., HEINZE, A., HEINZE-KUHN, K., RIETSCHHEL, M., GÖBEL, H., KUBISCH, C.: Variation of the serotonin transporter gene SLC6A4 in the susceptibility to migraine with aura. *Neurology*, 67(9):1707-9, 2006.
102. ERDAL, ME., HERKEN, H., YILMAZ, M., BAYAZIT, YA.: Significance of the catechol-O-methyltransferase gene polymorphism in migraine. *Brain Res Mol Brain Res*, 94(1-2):193-6, 2001.

103. HAGEN, K., PETTERSEN, E., STOVNER, L.J., SKORPEN, F., ZWART, J.A.: The association between headache and Val158Met polymorphism in the catechol-O-methyltransferase gene. *J Headache Pain*, 7(2):70-4, 2006.
104. KOWA, H., YASUI, K., TAKESHIMA, T., URAKOMI, K., SASAKI, F., NAKASHIMA, K.: The homozygous C677T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene in a genetic risk factor for migraine. *Am J Med Genet*, 96(6):762-4, 2000.
105. MAGIS, D., ALLENA, M., COPPOLA, G., DI CLEMENTE, L., GÉRARD, P., SCHOENEN, J.: Search for correlation between genotypes and electrophysiological patterns in migraine: the MTHFR C677T polymorphism and visual evoked potentials. *Cephalalgia*, 27(10):1142-9, 2007.
106. KARA, I., SAZCI, A., ERGUL, E., GUNER, K., KILIC, G.: Association of the C677T and A1298C polymorphism in the 5.10 methylenetetrahydrofolate reductase gene in patients with migraine risk. *Brain Res Mol Brain Res*, 111(1-2):84-90, 2003.
107. OTERINO A., VALLE, N., BRAVO, Y., MUÑOZ, P., SÁNCHEZ-VELASCO, P., RUIZ-ALEGRÍA, C., CASTILLO, J., LEYVA-COBIÁN, F., VADILLO, A., PASCUAL, J.: MTHFR T677 homozygosis influences the presence of aura in migraineurs. *Cephalalgia*, 24(6):491-4, 2004.
108. SCHER, A.I., TERWINDT, G.M., VERSCHUREN, W.M., KRUIT, M.C., BLOM, H.J., KOWA, H., FRANTS, R.R., VAN DEN MAAGDENBERG, A.M., VAN BUCHEM, M., FERRARI, M.D., LAUNER, L.J.: Migraine and MTHFR C677T genotype in a population-based sample. *Ann Neurol*, 59(2):372-5, 2006.
109. TODT, U., FREUDENBERG, J., GOEBEL, I., NETZER, C., HEINZE, A., HEINZE-KUHN, K., GÖBEL, H., KUBISCH, C.: MTHFR C677T polymorphism and migraine with aura. *Ann Neurol*, 60(5):621-2, 2006.

110. LEA, RA., DOHY, A., JORDAN, K., QUINLEN, K., BRIMAGE, DJ., GRIFFITHS, LR.: Evidence for allelic association of the dopamine beta-hydroxylase (DBH) with susceptibility to typical migraine. *Neurogenetics*, 3(1):35-40, 2000.
111. MOCHI, M., CEVOLI, S., CORTELLI, P., PIERANGELI, G., SORIANI, S., SCAPOLI, C., MONTAGNA, P.: A genetic association study of migraine with dopamine receptor 4, dopamine transporter and dopamine-beta-hydroxylase genes. *Neurol Sci*, 23(6):301-5, 2003.
112. PEROUTKA, SJ., WILHOUT, T., JENES, K.: Clinical susceptibility to migraine with aura is modified by dopamine D2 receptor (DRD2) NcoI alleles. *Neurology*, 49(1):201-6, 1997.
113. NOBLE, EP.: D2 dopamine receptor gene in psychiatric and neurological disorder and its phenotypes. *Am J Med Genet*, 116(19):103-25, 2003.
114. REBAUDENGO, N., RAINERO, I., PARZIALE, A., ROSINA, F., PAVANELLI, E., RUBINO, E., MAZZA, C., OSTACOLI, L., FURLAN, PM.: Lack of interaction between a polymorphism in the dopamine D2 receptor gene and the clinical features of migraine. *Cephalalgia*, 24(6):503-7, 2004.
115. DEL ZOMPO, M., CHERCHI, A., PALMAS, MA., PONTI, M., BOCCHETTA, A., GESSA, GL., PICCARDI, MP.: Association between dopamine receptor genes and migraine without aura in a Sardinian sample. *Neurology*, 51(3):781-6, 1998.
116. DE SOUSA, SC., KARWAUTZ, A., WÖBER, C., WAGNER, G., BREEN, G., ZESCH, HE., KONRAD, A., ZORMANN, A., WANNER, C., KIENBACHER, C., COLLIER, DA., WÖBER-BİNGÖL, C.: A dopamine D4 receptor exon 3 VNTR allele protecting against migraine without aura. *Ann Neurol*, 61(6):574-8, 2007.

117. MAUDE, S., CURTIN, J., BREEN, G., COLLIER, D., RUSSELL, G., SHAW, D., CLAIR, DS.: The -141C Ins/Del polymorphism of the dopamine D2 receptor gene is not associated with either migraine or Parkinson's disease. *Psychiatr Genet*, 11(1):49-52, 2001.
118. FERNANDEZ, F., LEA, RA., COLSON, NJ., BELLIS, C., QUINLAN, S., GRIFFITHS, LR.: Association between a 19 bp deletion polymorphism at the dopamine beta-hydroxylase (DBH) locus and migraine with aura. *J Neurol Sci*, 251(1-2):118-23, 2006.
119. KUSUMI, M., ISHIZAKI, K., KOWA, H., ADACHI, Y., TAKESHIMA, T., SAKAI, F., NAKASHIMA K.: Glutathione S-transferase polymorphism: susceptibility to migraine without aura. *Eur Neurol*, 49(49):218-22, 2003.
120. MATTSSON, P., BJELFMAN, C., LUNDBERG, PO., RANE, A.: Cytochrome P450 2D6 and glutathione S-transferase M1 genotypes and migraine. *Eur J Clin Invest*, 30(4):367-71, 2000.
121. RAINERO, I., SALANI, G., VALFRÈ, W., SAVI, L., RIVOIRO, C., FERRERO, M., PINESSI, L., GRIMALDI, LM.: Absence of linkage between the interleukin-6 gene (-174G/C) polymorphism and migraine. *Neurosci Lett*, 343(3):155-8, 2003.
122. TRABACE, S., BRIOLI, G., LULLI, P., MORELLINI, M., GIACOVAZZO, M., CICCARELLI, O., MARTELLETTI, P.: Tumor necrosis factor gene polymorphism in migraine. *Headache*, 42(5):341-345, 2002.
123. MAZAHERI, S., HAJILOOI, M., RAFIEI, A.: The G-308A promoter variant of the tumor necrosis factor-alpha gene is associated with migraine without aura. *J Neurol*, 253(12):1589-93, 2006.

124. RAINERO, I., GRIMALDI, LM., SALANI, G., VALFRÈ, W., RIVOIRO, C., SAVI, L., PINESSI, L.: Association between the tumor necrosis factor-alpha -308 G/A gene polymorphism and migraine. *Neurology*, 62(1):141-3, 2004.
125. MARZINIAK, M., MÖSSNER, R., BENNINGHOFF, J., SYAGAILO, YV., LESCH, KP., SOMMER, C.: Association analysis of the functional monoamine oxidase A gene promoter polymorphism in migraine. *J Neural Transm*, 111(5):603-9, 2004.
126. HOHOFF, C., MARZINIAK, M., LESCH, KP., DECKERT, J., SOMMER, C., MÖSSNER, R.: An adenosine A2A receptor gene haplotype is associated with migraine with aura. *Cephalalgia*, 27(2):177-81, 2007.
127. LEE, KA., JANG, SY., SOHN, KM., WON, HH., KIM, MJ., KIM, JW., CHUNG, CS.: Association between a polymorphism in the lymphotoxin-a promoter region and migraine. *Headache*, 47(7):1056-62, 2007.
128. GRASEMANN, H.: A neuronal NO synthase (NOS1) gene polymorphism is associated with asthma. *Biochem Biophys Res Commun*, 272(2):391-4, 2000.
129. WANG, YC., LIOU, YJ., LIAO, DL., BAI, YM., LIN, CC., YU, SC., CHEN, JY.: Association analysis of a neural nitric oxide synthase gene polymorphism and antipsychotics-induced tardive dyskinesia in Chinese schizophrenic patients. *J Neural Transm*, 111(5):623-9, 2004.
130. LEUNG, TF., LIU, EK., TANG, NL., KO, FW., LI, CY., LAM, CW., WONG, GW.: Nitric oxide synthase polymorphisms and asthma phenotypes in Chinese children. *Clin Exp Allergy*, 35(10):1288-94, 2005.

131. GALIMBERTI, D., VENTURELLI, E., GATTI, A., LOVATI, C., FENOGLIO, C., MARIANI, C., FORLONI, G., BRESOLIN, N., SCARPINI, E.: Association of neuronal nitric oxide synthase C276T polymorphism with Alzheimer's disease. *J Neurol*, 252(8):985-6, 2005.
132. WANG, YC., LIOU, YJ., LIAO, DL., BAI, YM., LIN, CC., YU, SC., CHEN, JY.: Association analysis of a neural nitric oxide synthase gene polymorphism and antipsychotics-induced tardive dyskinesia in Chinese schizophrenic patients. *J Neural Transm*, 111(5):623-9, 2004.
133. BUTTENSCHÖN, HN.: No association between a neuronal nitric oxide synthase (NOS1) gene polymorphism on chromosome 12q24 and bipolar disorder. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 124(1):73-5, 2004.
134. GASEMANN, H., STORM VAN'S GRAVESANDE, K., GÄRTIG, S., KIRSCH, M., BÜSCHER, R., DRAZEN, JM., RATJEN, F.: Nasal nitric oxide levels in cystic fibrosis patients are associated with a neuronal NO synthase (NOS1) gene polymorphism. *Nitric Oxide*, 6(2):236-41, 2002.
135. GASEMANN, H., KNAUER, N., BÜSCHER, R., HÜBNER, K., DRAZEN, JM., RATJEN, F.: Airway nitric oxide levels in cystic fibrosis patients are related to a polymorphism in the neuronal nitric oxide synthase gene. *Am J Respir Crit Care Med*, 162(6):2172-6, 2000.
136. LO, HS., HOGAN, EL., SOONG, BW.: 5'-flanking region polymorphism of the neuronal nitric oxide synthase gene with Parkinson's disease in Taiwan. *J Neurol Sci*, 194(1):11-3, 2002.

137. TAJOURI, L., FERREIRA, L., OVCHARIC, M., CURTAIN, R., LEA, R., CSURHES, P., PENDER, MP., GRIFFITHS, LR.: Investigation of a neuronal nitric oxide synthase gene (NOS1) polymorphism in a multiple sclerosis population. *J Neurol Sci*, 218(1-2):25-8, 2004.
138. SAUR, D.: Single-nucleotide promoter polymorphism alters transcription of neuronal nitric oxide synthase exon 1c in infantile hypertrophic pyloric stenosis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 101(6):1662-7, 2004.
139. TAKAHASHI, Y., NAKAYAMA, T., SOMA, M., UWABO, J., IZUMI, Y., KANMATSUSE, K.: Association analysis of TG repeat polymorphism of the neuronal nitric oxide synthase gene with essential hypertension. *Clin Genet*, 52(2):83-5, 1997.
140. DİLSİZ, N.: Moleküler Biyoloji. Elazığ, Çeçen Ofset Matbaacılık, 2000, 61-62.
141. <http://info.med.yale.edu/genetics/ward/tavi/PCR.html>, 20.08.2007.
142. <http://www.flmnh.ufl.edu/cowries/amplify.html>, 02.09.2007.
143. <http://www.medinfo.hacettepe.edu.tr/ders/TR/D3/8/2931.doc>, 20.08.2007.
144. OLESEN, J., JANSEN-OLESEN, I.: Nitric oxide mechanisms in migraine. *Pathol Biol*, 48(7):648-57, 2000.
145. SHIMOMURA, T., MURAKAMI, F., KOTANI, K., IKAWA, S., KONO, S.: Platelet nitric oxide metabolites in migraine. *Cephalalgia*, 19(4):218-22, 1999.
146. AKERMAN, S., WILLIAMSON, DJ., KAUBE, H., GOADSBY, PJ.: Nitric oxide synthase inhibitors can antagonize neurogenic and calcitonin gene-related peptide induced dilation of dural meningeal vessels. *Br J Pharmacol*, 137(1):62-8, 2002.

147. MYERS, DE.: Potential neurogenic and vascular roles of nitric oxide in migraine headache and aura. *Br J Pharmacol*, 137(1):62-8, 2002.
148. FERRARI, M.: Migraine. *Lancet*, 351(9108):1043-51, 1998.
149. THOMSEN, LL., DAUGAARD, D., IVERSEN, HK., OLESEN, J.: Normal radial artery dilation during reactive hyperemia in migraine without aura. In: OLESEN, J., et. al.: Headache pathogenesis. Monoamines, neuropeptides, purines and nitric oxide, Philadelphia, 1997, 267-71.
150. VELDMAN, BA., SPIERING, W., DOEVENDANS, PA., VERVOORT, G., KROON, AA., DE LEEUW, PW., SMITS, P.: The Glu298Asp polymorphism of the NOS 3 gene as a determinant of the baseline production of nitric oxide. *J Hypertens*, 20(10):2023-7, 2002.

## 7. ÖZGEÇMİŞ

1983 yılında Adıyaman'da doğdu. İlk ve orta öğreniminden sonra 2000 yılında İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nde lisans eğitimine başladı. 2004 yılında Eczacılık lisans eğitimini tamamlayarak aynı yıl Adıyaman'da kendi eczanesini açarak meslek yaşamına başladı.

2004-2005 eğitim yılı 1.yarıyılında Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü bünyesinde açılan sınavı kazanarak Farmakoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans eğitimine başladı. Halen Adıyaman'da eczane sahibi ve sorumlu müdürü olarak mesleğini sürdürmektedir.

Bekar olup, İngilizce bilmektedir.